

95
62

ESCOBAR - URIBE ASOCIADOS

A B O G A D O S

Carrera 11A No. 94-76 Of. 305 - P.O. Box 84948, Santiago de Bogotá,
Colombia, S.A.
Tel.: (571) 6162051 - 6162061 - 6161839 - 6161869
Fax: (571) 6161889

2386/P

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEV JES

E.

S.



00 83808

Re: Expediente No. 000

Solicitud de patente

NOVARTIS AG

RECEIVED
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEV JES
BOGOTA, D.C.
1999

Yo, JIMENA ESCOBAR URIBE, identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 A No. 94-76, of. 305-306, obrando como apoderada de NOVARTIS AG, domiciliada en Basilea, Suiza, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al auto No. 4011 notificado por estado de 30 de noviembre, relacionado con el concepto técnico 1965 de 24 de noviembre de 2000, manifiesto lo siguiente:

1. Acompaño el arte final de la fórmula química característica en tamaño 12 x 12 cm (por duplicado) y una copia en tamaño 6 x 6 cm.
2. Acompaño las copias certificadas con la correspondiente traducción de las solicitudes de patente No. 9927439.1 y 0007511.9, bases de la prioridad en este caso, las cuales fueron presentadas en Gran Bretaña el 19 de noviembre de 1999 y el 28 de marzo de 2000, respectivamente.

Espero con esto haber dado cabal cumplimiento a lo solicitado por ese despacho. De no ser así me acojo al plazo de prórroga establecido en el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión de Acuerdo de Cartagena y atentamente solicito que se me indique cuáles son los requisitos faltantes y que se expida un auto en donde se indique se concede la prórroga para proceder a cancelar las tasas oficiales correspondientes (*aunque este memorial se está presentando después del 1 de diciembre de 2000, fecha en la cual entró en vigencia la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, es claro que los plazos otorgados bajo la Decisión 344 y sus prórrogas se regirán por la mencionada Decisión*). Finalmente, solicito que de conformidad con lo indicado en los artículos 3º, inciso 3, 35 inciso 2 y 59 inciso 2 del CCA, al analizar este memorial, se traten todas las cuestiones planteadas con motivo del mismo.

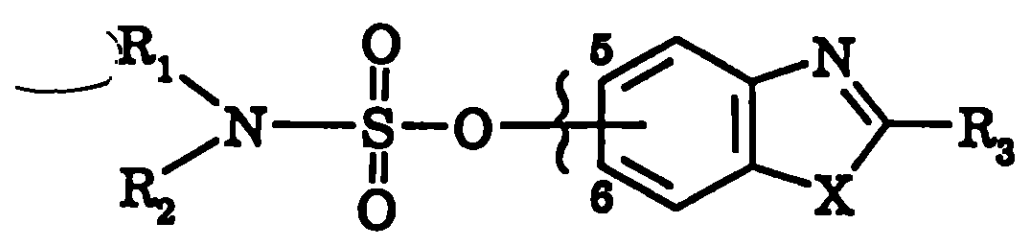
Señor Superintendente,

JIMENA ESCOBAR URIBE

C.C.39.779.452 de usaquén

T.P. 68228-Cód. 5376

los folios (Artes)
para tarjeta de archivo se retiraron
y extracto de publicación
Sept 10/2002
202047



I



2386.64



INVESTOR IN PEOPLE

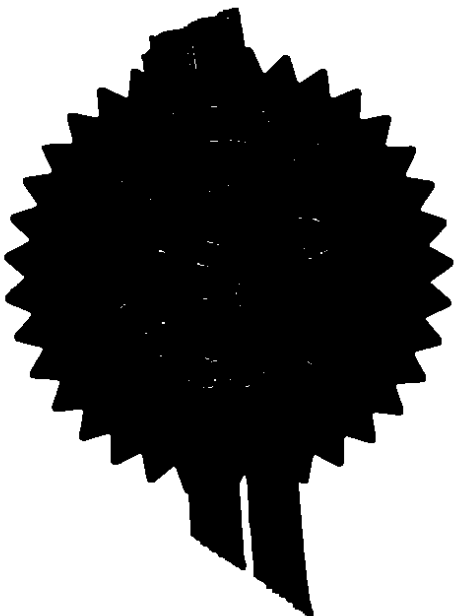
The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.



Signed *P. Mahoney*
Dated 10 October 2000

An Executive Agency of the Department of Trade and Industry

Patent Act 1977
(Rule 16)

The
Patent
Office

1/77

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)



The Patent Office

Cardiff Road

Welshpool

Gwent NP23 5RH

19 NOV 1999

1.	Your reference	Case	4-31200P1 NFI 9941
2.	Patent application number (The Patent Office will fill in this)	9927439.1	
3.	Full name, address and postcode of the or of each applicant (underline all surnames)	NOVARTIS AG SCHWARZWALDALLEE 215 4058 BASEL SWITZERLAND	
	Patent ADP number (if you know it)	7125487002	
	If the applicant is a corporate body, give the country/state of its incorporation	SWITZERLAND	
4.	Title of invention	Organic compounds	
5.	Name of your agent (if you have one)	B.A. YORKE & CO. CHARTERED PATENT AGENTS COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD ISLEWORTH MIDDLESEX TW7 6NH	
	"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent (including the postcode)		
	Patents ADP number (if you know it)	1800001	
6.	If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and the date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number	Country	Priority application number (if you know it)
			Date of filing (day/month/year)
7.	If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application	Number of earlier application	Date of filing (day/month/year)
8.	Is a statement of inventorship and of right to grant of a patent required in support of this request? (Answer 'Yes' if:	Yes	
	a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or		
	b) there is an inventor who is not named as an applicant, or		
	c) any named applicant is a corporate body.		
	(see note (d))		

Patents Form 1/77

9. Enter the number of sheets for any of the following items you are filing with this form.
Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form

Description 14

Claim(s) 3

Abstract 1

Drawing(s)

10. If you are also filing any of the following, state how many against each item.

Priority documents

Translations of priority documents

Statement of inventorship and right to grant of a patent (*Patents Form 7/77*)

Request for preliminary examination and search (*Patents Form 9/77*) One

Request for substantive examination (*Patents Form 10/77*)

Any other documents (please specify)

11. I/We request the grant of a patent on the basis of this application

Signature

Date

B.A. Yorke & Co.

B.A. Yorke & Co.

19.11.99

12. Name and daytime telephone number of person to contact in the United Kingdom Mrs. E. Cheetham
0181 560 5847

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication or communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the Patents Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been revoked.

Notes

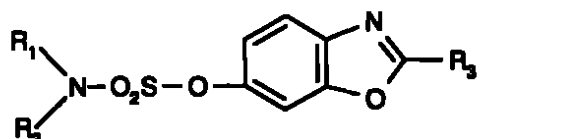
- If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.
- Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.
- If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form.
- Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.
- For details of the fee and ways to pay please contact the Patent Office.

31
66**Organic compounds**

DELICATE

The invention concerns new non-steroidal steroid sulfatase inhibitors and their use for the treatment of disorders characterized by increased levels of hormonally active steroids.

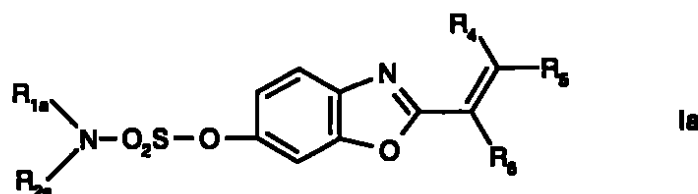
More particularly the invention concerns organic compounds of formula



wherein R_1 and R_2 are the same or different and represent hydrogen, acyl, alkoxycarbonyl or alkyl, R_3 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form, herein briefly named "compounds of the invention", processes for production thereof and their use as pharmaceuticals.

Alkyl as such or as part of a substituent is of 1 to 4 carbon atoms, it particularly is methyl, ethyl or t-butyl. Acyl preferably is the residue of a carbocyclic acid, in particular an alkyl, arylalkyl or aryl carbocyclic acid. Aryl preferably represents phenyl or tolyl. Cycloalkyl represents preferably cyclopropyl, cyclohexyl or cyclopentyl. Heteroaryl represents preferably pyridyl or thienyl.

A preferred subgroup of compounds of the invention are compounds of formula

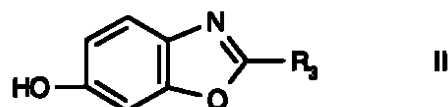


wherein R_{1a} and R_{2a} are the same or different and represent hydrogen or alkyl, R_4 , R_5 , R_6 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form, herein briefly named

"compounds of the invention", processes for production thereof and their use as pharmaceuticals.

The present invention also provides processes for the preparation of compounds of formula I, comprising

- a) sulfamoylation of compounds of formula



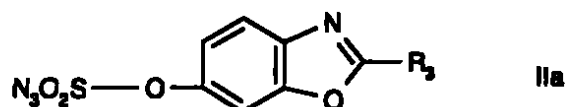
wherein R_3 is as defined above, according to known methods, or

- b) for the preparation of compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is alkyl, acyl or alkoxycarbonyl, N-alkylating or N-acylating compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is hydrogen,

and recovering thus obtained compounds of formula I in free form or, where such forms exist, in salt form.

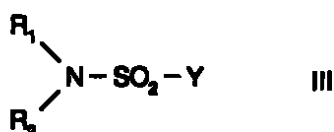
Process a) is performed using standard processes for sulfamoylation, e.g.

- α) reacting a phenolic starting material of formula II with sulfonyl chloride and sodium- or potassium azide to generate compounds of formula



wherein R_3 is as defined above, which give after reduction of the azide group compounds of formula I, wherein R_1 and R_2 represent hydrogen, or

- β) reacting a compound of formula II with ClSO_2NCO , followed by aqueous hydrolysis to yield compounds of formula I, wherein R_1 and R_2 represent hydrogen, or
- γ) reacting a compound of formula II with a compound of formula



wherein R_1 and R_2 are as defined above and Y is a leaving group, e.g. halogen, preferably chlorine, in an inert solvent, e.g. dimethylformamide or dimethylacetamide, with or without addition of an organic base, such as an organic tertiary amine, or an inorganic base, e.g. an alkali(hydrogen)carbonate or alkali hydride, preferably sodium hydride.

7/2
67

Process b) is performed according to standard procedures for N-alkylation and N-acylation using alkyl halogenides, -sulfates or -mesylates, preferably alkyl iodides or acyl- or alkoxy carbonylhalides, preferably chlorides, in the presence of a suitable base, preferably alkali carbonates or alkali hydrides, in an inert and preferably polar solvent, such as acetone or dimethylformamide, at temperatures between -20 and 120°C, preferably between room temperature and 60°C.

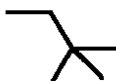
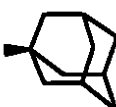
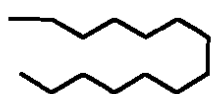
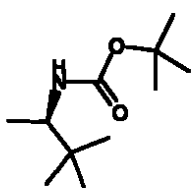
The starting materials and intermediate compounds are either known or can be prepared according to known methods or analogously as described in the examples.

In the following examples, which illustrate the invention but in no way limit its scope, references to temperatures are in degrees celsius:

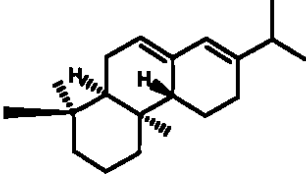
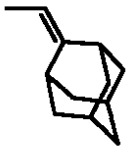
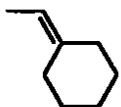
Example 1: Sulfamic acid 2-(adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-yl ester (process a)

To a solution of 50 mg of 2-adamantan-1-ylmethyl-benzoxazol-6-ol in 5 ml of a mixture of dichloromethane and dimethylformamide (9/1) 74 mg of 2,6-di-tert-butyl-4-methyl-pyridine and 83 mg of amidosulfonyl chloride are added and stirred at room temperature for 2 hours. The solvent is evaporated and the residue obtained is purified by chromatography on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate = 2/1). In course of evaporating the solvent crystallisation occurs. mp = 147-150°

Analogously as described in example 1 the following compounds of the invention can be prepared ($R_1 = R_2 = H$):

Ex.	R_3	mp
2		140-143°
3		97-100°
4		99-101°
5	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	145-148°
6	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	160-180°
7	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_{11})_2$	66-72°
8		oil
9		164-166°

68
73

10		92-99°
11		172-174°
12		68-73°
13		149-152°

Example 8: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7.54 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 2.2 + 8.7$ Hz, 1H), 5.92 (bs, 2H), 5.72 (bd, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (s, 9H).

The phenols used as starting materials can be prepared in the following manner:

A) 2-(Adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-ol

424 mg of 2-adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide and 1.18 g of triphenylphosphane are dissolved in 15 ml of dry tetrahydrofuran and 0.7 ml of diethyl azodicarboxylate (DEAD) are added dropwise. After stirring over night at room temperature the solvent is evaporated and the residue is purified by chromatography on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate = 3/1 $\rightarrow$ 2/1) yielding pure 2-(adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-ol. mp = 247-251 °

Analogously as described above the following compounds can be prepared:

2-(2,2-Dimethyl-propyl)benzoxazol-6-ol: mp = 176-184 °

2-(Adamantan-1-yl)benzoxazol-6-ol: mp = 260-265 °

2-Tridecyl-benzoxazol-6-ol: mp = 72-73 °

2-(2,2-Diphenyl-ethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 182-206 °

2-(2,2,2-Triphenyl-ethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 150-155 °

2-Dicyclohexylmethyl-benzoxazol-6-ol: mp = 196-204 °

[1-(6-Hydroxy-benzoxazol-2-yl)-2,2-dimethyl-propyl]carbamic acid tert.-butyl ester: mp = 131-160 °

2-(Hexahydro-2,5-methano-pentalen-3a-yl)benzoxazol-6-ol: mp = 241-243 °

2-(7-Isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydro-phenanthren-1-yl)-benzoxazol-6-ol: mp = 90-95 °

2-(Adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 248-253 °

2-Cyclohexylidenemethyl-benzoxazol-6-ol: 158-162 °

B) 2-tert.-Butyl-benzoxazol-6-ol

A mixture of 1.01 ml of pivaloyl chloride, 808 mg of 2,4-dihydroxyaniline.hydrochloride and 0.4 ml of pyridine are heated at 210 ° for 18 hours. Then the reaction mixture is dispersed in cyclohexane/ethyl acetate (2/1) and purified by chromatography on silica gel with the same solvent affording pure 2-adamantan-1-ylmethyl-benzoxazol-6-ol. mp = 204-210 °

C) 2-(Adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol

6.6 g of 2-methyl-benzoxazol-6-ol are dissolved in 100 ml of dry tetrahydrofuran, cooled to 0 ° and hung base and trimethylsilyl chloride are added. Then the ice bath is removed and stirring is continued for 2 hours. For the deprotonation the reaction mixture is cooled to -78 ° and NaHMDS-solution is added within 20 minutes. After an additional hour solid 2-adamantanone is added and kept at -78 ° for another hour. Then the reaction mixture is allowed to warm up to room temperature, poured into 300 ml of 1M NaHSO₄ solution and extracted with 700 ml of ethyl acetate. The organic layer is washed once with 1M NaHSO₄ solution, twice with brine and dried over sodium sulfate. The solvent is evaporated and the residue obtained is redissolved in 240 ml of toluene and 3.1 ml of trifluoroacetic acid by heating the reaction mixture to 115 ° for 7 hours. Cooling to room temperature is accompanied by crystallisation. Filtration gives the trifluoroacetate of the title compound. Recrystallisation from ethanol gives 2-(adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol.

Analogously as described above the following compound can be prepared:

2-Cyclohexylidenemethyl-benzoxazol-6-ol

69
24

The anilides used as starting materials in A) can be prepared in the following manner:

a) 2-Adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide

1.05 ml of hunig base are added to a solution of 323 mg of 2,4-dihydroxyaniline hydrochloride, 388 mg of adamantan-1-yl-acetic acid and 1.2 ml of propylphosphonic anhydride (50% in ethyl acetate) in 20 ml of dry dichloromethane at 0 °. The mixture is stirred for 18 hours at room temperature, then the solvent is evaporated and the residue dissolved in 50 ml of ethyl acetate and extracted with 1M aqueous hydrochloric acid, saturated aqueous NaHCO₃ solution and brine. The organic layer is dried over sodium sulfate and the solvent is evaporated to give 2-adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)-acetamide. mp = 195-197 °

Analogously as described above the following compounds can be prepared:

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3-dimethyl-butyramide: ¹H-NMR (CDCl₃): 7.41 (s, 1H), 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 2.7 + 8.5 Hz, 1H), 2.29 (s, 2H), 1.10 (s, 9H).

Adamantane-1-carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 108-110 °

Tetradecanoic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 110-112 °

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3-diphenyl-propionamide: mp = 206-208 °

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3,3-triphenyl-propionamide: mp = 234-235 °

2,2-Dicyclohexyl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide: mp = 179-181 °

[1-(2,4-Dihydroxy-phenylcarbamoyl)-2,2-dimethyl-propyl]carbamic acid tert.-butyl ester: mp = 88-91 °

Hexahydro-2,5-methano-pentalene-3 α -carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 204-206 °

7-Isopropyl-1,4 α -dimethyl-1,2,3,4,4 α ,4 β ,5,6,10,10 α -decahydro-phenanthren-1-carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 200-207 °

b) 2-Adamantan-2-ylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide

3.0 g of adamantan-2-ylidene-acetic acid, 5.91 g of triphenylphosphane and 4.95 g of dipyridyldisulfide are dissolved in 100 ml of dichloromethane and stirred at room temperature over night. 5.13 ml of hunig base and 4.83 g of 2,4-dihydroxyaniline.hydrochloride are added and stirred for additional 24 hours, then the solvent is evaporated and

the residue dissolved in ethyl acetate and extracted with a saturated aqueous NaH_2PO_4 solution and brine. The organic layer is dried over sodium sulfate and the solvent is evaporated. The residue obtained is purified by chromatography on silica gel with cyclohexane/ethyl acetate (2/1) yielding 2-adamantan-2-ylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)-acetamide. mp = 166-169 °

Analogously as described above the following compound can be prepared:

2-Cyclohexylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.27 (dd, $J = 2.7 + 8.6$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 2.82 (bm, 2H), 2.16 (bm, 2H), 1.60 (s, 6H).

Steroidal hormones in particular tissues are associated with several diseases, such as tumors of breast, endometrium and prostate, and disorders of the pilosebaceous unit, e.g., acne, androgenetic alopecia, and hirsutism. Important precursors for the local production of these steroid hormones are steroid 3-O-sulfates which are desulfated by the enzyme steroid sulfatase in the target tissues. Inhibition of this enzyme results in reduced local levels of the corresponding active steroidal hormones, which is expected to be of therapeutic relevance. Furthermore, steroid sulfatase inhibitors may be useful as immunosuppressive agents, and have been shown to enhance memory when delivered to the brain. The application of steroid sulfatase inhibitors in the treatment of acne and other androgen-dependent skin disorders, as proposed in the current invention, is new.

Acne is a polyetiological disease caused by the interplay of numerous factors, such as inheritance, sebum, hormones, and bacteria. The most important causative factor in acne is sebum production; in almost all acne patients sebaceous glands are larger and produce more sebum than do persons with healthy skin. The development of the sebaceous gland and the extent of sebum production is controlled hormonally by androgens; therefore, androgens play a crucial role in the pathogenesis of acne. In man, there are two major sources supplying androgens to target tissues: (i) the gonades which secrete testosterone, (ii) the adrenals producing dehydroepiandrosterone (DHEA) which is secreted as the sulfate conjugate (DHEAS). Testosterone and DHEAS are both converted to the most active androgen, dihydrotestosterone (DHT), in the target tissue, e.g. in the skin. There is evidence that these pathways of local synthesis of DHT in the skin are more important than direct supply with active androgens from the circulation. Therefore, reduction of endogeneous levels of androgens in the target tissue by specific inhibitors should be of

2
25

therapeutic benefit in acne and seborrhoea. Furthermore, it opens the perspective to treat these disorders through modulation of local androgen levels by topical treatment, rather than influencing circulating hormone levels by systemic therapies.

Androgenetic male alopecia is very common in the white races, accounting for about 95% of all types of alopecia. Male-pattern baldness is caused by an increased number of hair follicles in the scalp entering the telogen phase and by the telogen phase lasting longer. It is a genetically determined hair loss effected through androgens. Elevated serum dehydroepiandrosterone but normal testosterone levels have been reported in balding men compared with non-balding controls, implying that target tissue androgen production is important in androgenetic alopecia.

Hirsutism is the pathological thickening and strengthening of the hair which is characterized by a masculine pattern of hair growth in children and women. Hirsutism is androgen induced, either by increased formation of androgens or by increased sensitivity of the hair follicle to androgens.

Therefore, a therapy resulting in reduction of endogeneous levels of androgens and/or estrogens in the target tissue (skin) should be effective in acne, androgenetic alopecia and hirsutism.

Dihydrotestosterone (DHT), the most active androgen, is synthesized in the skin from the abundant systemic precursor dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS); the first step in the metabolic pathway from DHEAS to DHT is the desulfatation of DHEAS by the enzyme steroid sulfatase to produce DHEA. The presence of the enzyme in keratinocytes and in skin-derived fibroblasts has been described. The potential use of steroid sulfatase inhibitors for the reduction of endogenous levels of steroid hormones in the skin was confirmed using known steroid sulfatase inhibitors, such as estrone 3-O-sulfamate and 4-methylumbelliferyl-7-O-sulfamate. We found that inhibitors of placental steroid sulfatase are also inhibitors of the enzyme prepared from either a human keratinocyte (HaCaT) or a human skin-derived fibroblast cell line (1BR3GN). The inhibitors were also shown to block steroid sulfatase in intact monolayers of the HaCaT keratinocytes.

Therefore, inhibitors of steroid sulfatase can be used to reduce androgen and estrogen levels in the skin. They can be used as inhibitors of the enzyme steroid sulfatase for the local treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit (such as acne,

seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism) and for the local treatment of squamous cell carcinoma.

Furthermore non-steroidal steroid sulfatase inhibitors and their use for the treatment of disorders in which the steroid products of the sulfatase cleavage play a role. Indications for these new inhibitors include androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit (such as acne, seborrhea, androgenetic alopecia, hirsutism); estrogen- or androgen-dependent tumors, such as squamous cell carcinoma and neoplasms of, e.g., the breast, endometrium, and prostate; for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, type I and II diabetes, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis, myasthenia gravis, thyroiditis, vasculitis, ulcerative colitis, and Crohn's disease, psoriasis, contact dermatitis, graft versus host disease, eczema, asthma and organ rejection following transplantation.

Steroid sulfatase inhibitors are also useful for the treatment of cancer, especially for the treatment of estrogen- and androgen-dependent cancers, such as cancer of the breast and endometrium and squamous cell carcinoma, and cancer of the prostate.

Steroid sulfatase inhibitors are also useful for the enhancement of cognitive function, especially in the treatment of senile dementia, including Alzheimer's disease, by increasing the DHEAS levels in the central nervous system.

These activities can be shown in the following test systems:

Purification of human steroid sulfatase.

Human placenta was obtained fresh after delivery and stripped of membranes and connective tissues. For storage, the material was frozen at -70°C. After thawing, all further steps were carried out at 4°C, while pH values were adjusted at 20°C. 400 g of the tissue were homogenized in 1.2 L of buffer A (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.25 M sucrose). The homogenate was centrifuged at 10,000xg for 45 minutes. The supernatant was set aside and the pellet was re-homogenized in 500 mL buffer A. After centrifugation, the two supernatants were combined and subjected to ultracentrifugation (100,000xg, 1 hour). The pellet was resuspended in buffer A and the centrifugation was repeated. The pellet was suspended in 50 mL 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, and stored at -20°C until further work-up.

After thawing, microsomes were collected by ultracentrifugation (as above) and suspended in 50 mL buffer B (10 mM Tris-HCl, pH 7.0, 1 mM EDTA, 2 mM 2-mercaptoethanol, 1 % Triton X-100, 0.1 % aprotinin). After 1 hour on ice with gentle agitation, the suspension was

71
28

centrifuged (100,000xg, 1 hour). The supernatant containing the enzyme activity was collected and the pH was adjusted to 8.0 with 1 M Tris.

Then the solution was applied to a hydroxy apatite column (2.6x20 cm), equilibrated with buffer B, pH 8.0. The column was washed with buffer B at a flow rate of 2 ml/min. The activity was recovered in the flow-through. The pool was adjusted to pH 7.4 and subjected to chromatography on a concanavalin A sepharose column (1.6x10 cm) equilibrated in buffer C (20 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.1 % Triton X-100, 0.5 M NaCl). The column was washed with buffer C, and then the bound protein was eluted with 10 % methyl mannoside in buffer C. Active fractions were pooled and dialysed against buffer D (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, 0.1 % Triton X-100, 10 % glycerol (v/v)).

The retentate was applied to a blue sepharose column (0.8x10 cm) equilibrated with buffer D; the column was washed and then eluted with a linear gradient of buffer D to 2 M NaCl in buffer D. Active fractions were pooled, concentrated as required (Centricon 10), dialysed against buffer D and stored in aliquots at -20°C.

Assay of human steroid sulfatase.

It is known that purified human steroid sulfatase not only is capable to cleave steroid sulfates, but also readily cleaves aryl sulfates such p-nitrocatechol sulfate which was used here. Assay mixtures were prepared by consecutively dispensing the following solutions into the wells of flat-bottom microtiter plates:

- 1) 50 µl inhibitor dilution in buffer (= 0.1 M Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 % Triton X-100);
- 2) 50 µl substrate (= 20 mM p-nitrocatechol sulfate in buffer)
- 3) 50 µl enzyme dilution to give a final concentration of 75 nM steroid sulfatase.

Plates were incubated at 37°C for 30 minutes. Then the assay was stopped by addition of 100 µl 1 N NaOH, and optical density was measured in a microplate reader at 492 nm. Compounds were added from stock solutions in ethanol; the final ethanol concentration did not exceed 0.1 %. IC₅₀ values were calculated by nonlinear regression of the concentration/optical density data using the program Grafit (Erithacus Ltd.). Reported values are the mean of three determinations.

Calculation of relative IC₅₀ values.

From the fluorescence intensity data (I) obtained at different concentrations (c) of the test compound in the assay described above, the concentration inhibiting the enzymatic activity by 50 % (IC₅₀) was calculated using the relation

$$I = \frac{I_{100}}{1 + (C / IC_{50})^s}$$

where I_{100} is the intensity observed in the absence of inhibitor and s is a slope factor. Estrone sulfamate served as a reference compound and its IC_{50} value was determined in parallel to all other test compounds. Relative IC_{50} values were defined as follows:

$$\text{rel } IC_{50} = \frac{IC_{50} \text{ of test compound}}{IC_{50} \text{ of estrone sulfamate}}$$

Estrone sulfamate showed an IC_{50} value of approximately 60 nM. The compounds of the invention inhibit steroid sulfatase with rel IC_{50} in the range of 0.006 to 30.

Steroid sulfatase activity in cell extracts.

HaCaT keratinocytes or 1BR3GN fibroblasts were grown to confluency using standard cell culture techniques. Cells were harvested by trypsinization, washed once with PBS and suspended in 20 mM Tris-HCl, pH 8.0. The suspension was sonicated and then centrifuged at 12,000xg for 30 minutes. The supernatant was subjected to ultracentrifugation at 100,000xg for 60 minutes. The resulting microsomal pellet was resuspended in buffer containing 0.1 % Triton X-100 and left standing for 30 minutes. After additional centrifugation at 100,000xg for 30 minutes the supernatant which contains the solubilized enzyme was removed and stored at 4°C.

For assay of the enzymatic activity, 10 µl enzyme solution were added to 100 µl 50 µM dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) containing approximately 60,000 dpm [^3H]DHEAS (21 Ci/mmol) in 0.1 M Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 % Triton X-100. Test compounds were included at various concentrations; they were added from stock solutions in DMSO. After incubation for 30 minutes at 37 °C, 250 µl of 1 N NaOH were added. The mixture was extracted with 1 ml toluene. 800 µl of the organic layer were subjected to liquid scintillation counting to determine the fraction of substrate that was cleaved to dehydroepiandrosterone (DHEA). IC_{50} values were calculated in analogy to the method described above.

Estrone sulfamate was found to inhibit the steroid sulfatase with IC_{50} in the range of 1 - 5 nM, depending on the enzyme concentration used.

22

22

Incubation of HaCaT keratinocytes with DHEAS.

HaCaT cells were cultivated in Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10 % fetal calf serum (FCS). They were grown to confluency and then harvested by trypsinization. Approximately, $2 \cdot 10^8$ cells were dispensed into 9.6 cm^2 dishes and incubated in medium containing FCS until confluency was reached. Then the medium was changed to serum-free DMEM (1.5 ml per well); DHEAS was included as substrate at a concentration of $0.3 \text{ }\mu\text{M}$ with $1.5 \text{ }\mu\text{Ci/well}$ [^3H]DHEAS (21 Ci/mmol) as tracer. Incubation was continued for 96 hours. Test compounds were added from stock solutions in ethanol; the final ethanol concentration in the assay did not exceed 1 %. In parallel, DHEAS was also incubated with medium without cells as a control for non-enzymatic hydrolysis. After incubation, the supernatant was removed and 1 ml was extracted with 4 ml toluene. 3 ml of the organic layer were collected and the solvent evaporated in vacuo. The residue was taken up in acetonitrile. $10 \text{ }\mu\text{g}$ DHEA were included as carrier. The extract was analysed by HPLC using a RP C-8 column and isocratic elution with 10 mM ammonium sulfate, pH 6 / acetonitrile 60:40 at a flow rate of 1 ml/min. The amount of DHEA cleaved during incubations was calculated from the area of the corresponding radioactive peak, determined by continuous monitoring with a radiodetector equipped with a flow-cell. From the data obtained at various concentrations of the test compounds, IC_{50} and rel IC_{50} values were calculated as described above for the assay using purified enzyme. The IC_{50} value for estrone sulfamate was approximately 0.1 nM. The compounds of the invention showed rel IC_{50} values in the range of 0.1 to 100.

The compounds of the invention are therefore indicated for use as steroid sulfatase inhibitors, in the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhea, androgenetic alopecia, hirsutism and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease.

For this use the dosage to be used will vary, of course, depending e.g. on the particular compound employed, the mode of administration and the treatment desired. However, in general, satisfactory results are obtained when the compounds are administered at a daily dosage of from about 0.1 mg/kg to about 100 mg/kg animal body weight, suitably given in divided doses two to four times daily. For most large mammals the total daily dosage is from about 5 mg to about 5000 mg, conveniently administered, for example, in divided doses up to four times a day or in retard form. Unit dosage forms comprise, for example, from about

1.25 mg to about 2000 mg of the compounds in admixture with at least one solid or liquid pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

The compounds of the invention may be administered in similar manner to known standards for use in such indications. The compounds may be admixed with conventional chemotherapeutically acceptable carriers and diluents and, optionally, further excipients, and administered e.g. orally in such forms as tablets and capsules.

Alternatively, the compounds may be administered topically in such conventional forms as ointments or creams, parenterally or intravenously. The concentrations of the active substance will, of course vary depending e.g. on the compound employed, the treatment desired and the nature of the form. In general, however, satisfactory results are obtained, e.g. in topical application forms at concentrations of from about 0.05 to about 5 %, particularly from about 0.1 about 1 % by weight.

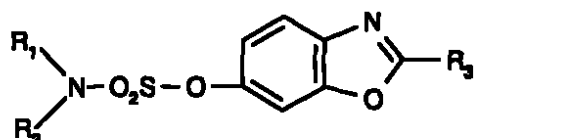
Pharmaceutical compositions comprising a compound of the invention together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent also form part of the invention, as well as a process for the preparation thereof by mixing together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent. The invention also comprises the compounds of the invention for use as pharmaceuticals, especially in the prevention or treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease.

The invention further comprises a method of prevention or treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease, which comprises administering a therapeutically effective amount of a compound of the invention to a subject in need of such treatment.

73
78

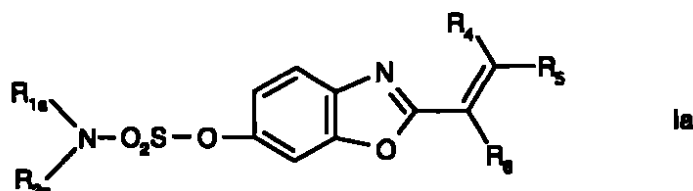
Claims:

1. Organic compounds of formula



wherein R_1 and R_2 are the same or different and represent hydrogen, acyl, alkoxycarbonyl or alkyl, R_3 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form.

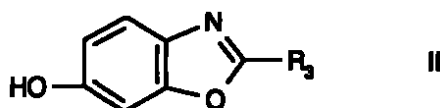
2. Organic compounds of formula



wherein R_{1a} and R_{2a} are the same or different and represent hydrogen or alkyl, R_4 , R_5 , R_6 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form.

3. Processes for the preparation of compounds of formula I as defined in claim 1, comprising

a) sulfamoylation of compounds of formula



wherein R_3 is as defined in claim 1, according to known methods, or

- b) for the preparation of compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is alkyl, acyl or alkoxycarbonyl, N-alkylating or N-acylating compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is hydrogen,

and recovering thus obtained compounds of formula I in free form or, where such forms exist, in salt form.

4. Use of non steroidal steroid sulfatase inhibitors for the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit.
5. Use of non steroidal steroid sulfatase inhibitors for the treatment of acne, seborrhoea, androgenetic alopecia and hirsutism.
6. A pharmaceutical composition comprising a compound of formula I as defined in claim 1 in free form or pharmaceutically acceptable salt form together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
7. A process for the preparation of a pharmaceutical composition according to claim 6 which comprises mixing a compound of formula I with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
8. A compound according to claim 1 for use as a pharmaceutical.
9. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of disorders, in which the steroid products of the sulfatase cleavage play a role.
10. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, of estrogen- or androgen-dependent tumors, of inflammatory diseases, of autoimmune diseases and of dementia.

74
79

11. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, squamous cell carcinoma and neoplasms of the breast, endometrium and prostate.
12. A method of treatment comprising administering a therapeutically effective amount of a compound of formula I as defined in claim 1 in free form or pharmaceutically acceptable salt form to a subject in need of such treatment.

-2386 8/25

(Emblema)

(Logotipo)

INVERSIONISTA EN LA GENTE

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
Gales del Sur
NP10 8QQ

Yo, el suscrito, siendo un funcionario debidamente autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) de la Ley de Desregulación y Contratación Externa de 1994, para firmar y expedir certificados a nombre del Contralor General, mediante la presente certifico que el anexo es una copia fiel de los documentos tal como se presentaron originalmente en relación con la Solicitud de Patente identificada en los mismos.

De acuerdo con las Reglas de Patentes (Re-registro de Sociedades) de 1982, si una sociedad nombrada en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se ha re-registrado, de acuerdo con la Ley de Sociedades de 1980, con el ... mismo nombre que aquél con el que se registró inmediatamente antes del re-registro, salvo por la sustitución como, o la inclusión como, la última parte del nombre con las palabras "sociedad pública limitada" o sus equivalentes en Galo, las

76 82

referencias al nombre de la sociedad en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se tratarán como referencias al nombre con el cual así se re-registró.

De acuerdo con las reglas, las palabras "sociedad pública limitada" pueden ser reemplazadas por s.p.l., spl, S.P.L., ó SPL.

El re-registro según la Ley de Sociedades no constituye una nueva entidad legal, sino que meramente sujeta a la sociedad a ciertas reglas adicionales de la ley de sociedades.

Firma: (Firmado)

Fecha: 11 de octubre de 2000.

Una Agencia Ejecutiva del Departamento
de Comercio e Industria
(Aparece un sello móvil de la Oficina de Patentes).

27 28

1/77

(Ilegible)

P01/7700 0.00 - 9929439.1

Ley de Patentes de 1977

(Regla 16)

(Aparece un sello ovalado impreso con la siguiente leyenda:

LA OFICINA DE PATENTES

29 DE MARZO DE 2000

RECIBIDO PERSONALMENTE

).

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes

Cardiff Road

Newport

Gwent NP9 1RH

SOLICITUD PARA LA CONCESION DE UNA PATENTE

(Ver las notas al reverso de esta forma. También puede obtener un folleto de explicaciones en la Oficina de Patentes, para ayudarle a llenar esta forma).

1. Su referencia: 4-31200P1 NFI 9941

2. Número de Solicitud de Patente:

(La Oficina de Patentes llenará esta parte)

9927439.1

84
20

3. Nombre completo, domicilio, y código postal de cada solicitante (*subraye todos los apellidos*):

NOVARTIS AG
SCHWARZWALDALLEE 215
4058 BASILEA
SUIZA

Número ADP de Patentes (*si lo conoce*):

7125487002

Si el solicitante es un cuerpo corporativo, dé el país/estado de su incorporación:

SUIZA

4. Título de la invención:

Compuestos Orgánicos

5. Nombre de su agente (*si tiene alguno*):

B. A. YORKE & CO.
AGENTES DE PATENTES AUTORIZADOS

"Dirección para notificaciones" en el Reino Unido, a donde se debe enviar toda la correspondencia (*incluyendo el código postal*):

COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD
ISLEWORTH
MIDDLESEX TW7 6NH

85
29

Número ADP de Patentes (si lo conoce):

1800001

6. Si está declarando prioridad a partir de una o más solicitudes de patente anteriores, dé el país y la fecha de presentación de cada una de estas solicitudes anteriores, y (si lo conoce) cada número de solicitud:

País: - - -

Número de solicitud de prioridad (si lo sabe): - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de otra manera de una solicitud anterior del Reino Unido, dé el número y la fecha de presentación de la solicitud anterior:

Número de solicitud anterior: - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

8. ¿Es una declaración de invención y del derecho de otorgar una patente requerida en apoyo de esta solicitud? (Conteste "Sí" en el caso de que:

...

- a) cualquier solicitante nombrado en la parte 3 no sea un inventor, ó
- b) haya un inventor que no esté nombrado como un solicitante, ó

76.
80

c) cualquier solicitante nombrado sea un cuerpo corporativo.

Ver la nota (d)): **sí**

9. Anote el número de páginas para cualquiera de los siguientes artículos que esté presentando con esta forma. No cuente las copias del mismo documento.

Páginas de continuación de esta forma	--
Descripción	14
Reivindicaciones	3
Resumen	1
Dibujo(s)	--

10. Si también está presentando cualquiera de los siguientes, informe cuántas en cada uno de los puntos.

Documentos de prioridad:	--
Traducción de documentos de prioridad:	--
Declaración de invención y derecho a la concesión de una patente (Forma de Patentes 7/77):	--
Solicitud de examen preliminar y búsqueda (Forma ... de Patentes 9/77):	Una
Solicitud de examen sustantivo (Forma de Patentes 10/77):	--
Cualesquiera otros documentos (por favor especifique):	--

87
01

11. Solicitamos la concesión de una patente con base en esta solicitud.

Firma: B. A. Yorke & Co.

(Firmado)

Fecha: 19.11.99

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para hacer contacto en el Reino Unido:

SRA. E. CHEETHAM

0181 560 5847

Advertencia

Después de que se haya presentado una solicitud de patente, el Contralor de la Oficina de Patentes considerará si se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de la invención, de acuerdo con la Sección 22 de la Ley de Patentes de 1977. Se le informará si es necesario prohibir o restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive en el Reino Unido, la Sección 23 de la Ley de Patentes de 1977 le impide solicitar una patente en el extranjero sin obtener primero un permiso por escrito de la Oficina de Patentes, a menos que se haya presentado una solicitud cuando menos 6 semanas antes en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y no se hayan dado instrucciones que prohíban la publicación o la comunicación, o se hayan revocado dichas instrucciones.

Notas

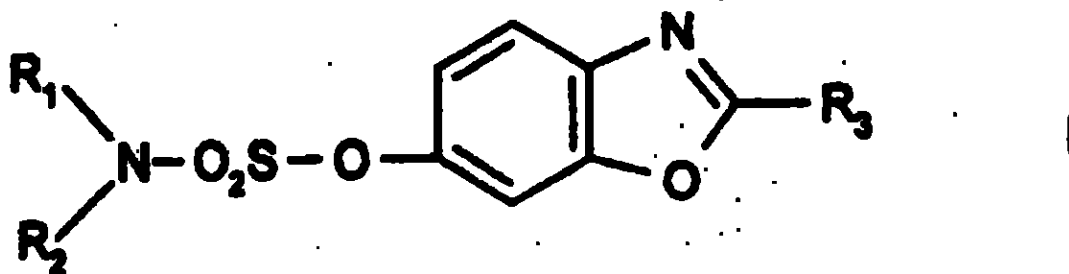
~~88~~
82

- a) Si necesita ayuda para llenar esta forma, o tiene alguna pregunta, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes al 0645 500505.
- b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas, utilizando tinta negra, o puede mecanografiarlas.
- c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles pertinentes en cualquier parte de esta forma, por favor continúe en una hoja de papel separada, y escriba "ver página de continuación" en las partes pertinentes. Cualquier página de continuación se debe adjuntar a esta forma.
- d) Una vez que haya llenado la forma, debe recordar firmarla y fecharla.
- e) Para los detalles de los derechos y de las maneras de pagar, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes.

Compuestos Orgánicos

La invención concierne a esteroides inhibidores de sulfarasa no esteroideles novedosos y sus usos para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por niveles de esteroides activos hormonales incrementados.

De una manera más particular, concierne a compuestos orgánicos de la fórmula I: -



en donde:

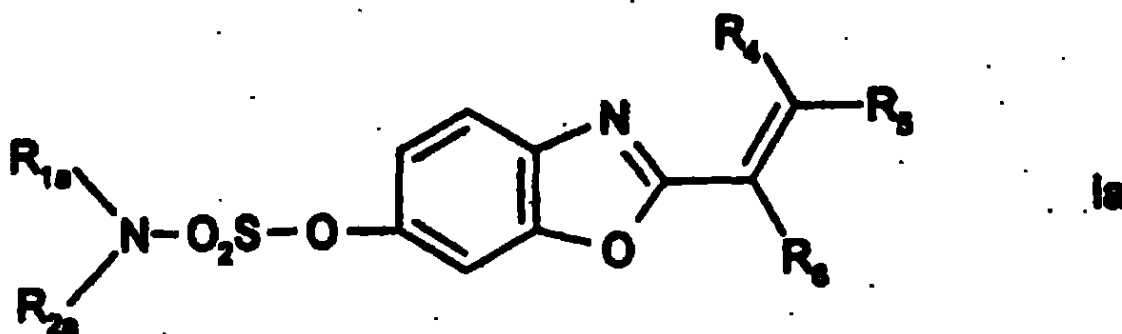
R_1 y R_2 son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcoxycarbonilo; R_3 representa alquilo; alquénilo; alquinilo; acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicitcloheximetilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma libre y, cuando existan estas formas, en forma de sal, en adelante brevemente llamados "compuestos de la invención", procesos

20
84

para producirlos y sus usos como productos farmacéuticos.

Alquilo tal como parte de un sustituyente es de 1 a 4 átomos de carbono, y en particular es metilo, etilo o terbutilo. Acilo de preferencia es el residuo de un ácido carboxílico, en particular un ácido carboxílico de alquilo, aralquilo, o arilo, por ejemplo un ácido carboxílico de alquilo, aralquilo, o arilo. Arilo de preferencia representa fenilo, o tililo. Cicloalquilo represente de preferencia ciclopropilo, ciclohexilo, o ciclopentilo. Heteroarilo representa de preferencia piridilo o tienilo

Un subgrupo adicional de compuestos de la invención, es el de los compuestos de la fórmula Ia:



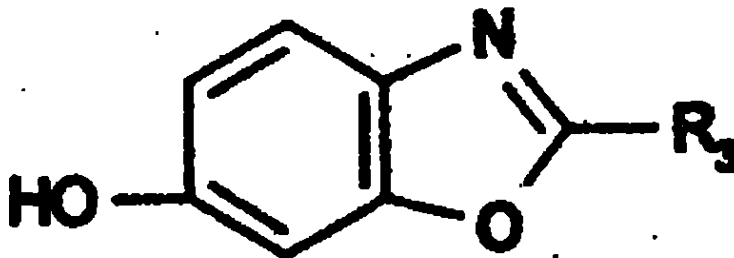
en donde R_{1a} y R_{2a} son iguales o diferentes y representan hidrógeno o alquilo, R₄, R₅ R₆ representan hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilalquilo arilalquenilo, arilalquinilo, acilo, cicloalquilalquilo, camfenilo adamantilo, biciclo[2.2.1]hep-2-ilmetilo, noradmantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, diciclohexilmetilo, heteroarilo, y heteroalquilalquilo, por

9X
85

lo cual, arilo, cicloalquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoxilo, o halógeno, en forma libre y, donde existan estas formas, en forma de sal, en adelante brevemente llamados "compuestos de la invención", procesos para la preparación de los mismos y sus usos como productos farmacéuticos.

La invención incluye además un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula I la cual comprende:

- a) sulfamoiar un compuesto de la fórmula:



II.

en donde R_3 es como se definió anteriormente, de acuerdo con los métodos conocidos, ó

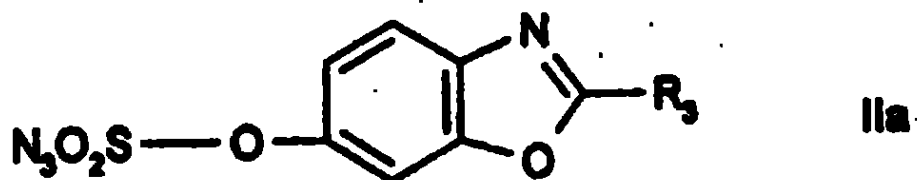
b) para la preparación de compuestos de la fórmula I, en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 son alquilo, acilo o alcoxycarbonilo, N-alquilación o N-acilación de los compuestos de la fórmula I en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 es hidrógeno, y recobrando los compuestos así obtenidos de la fórmula I en forma libre, o cuando estas formas existan, en forma de

gr
86

sales.

El proceso a) se realiza utilizando procesos estándares para sulfomoiación, por ejemplo:

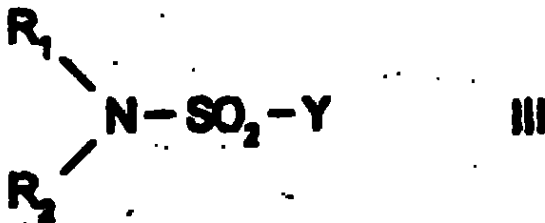
α) hacer reaccionar un material de partida fenolico de la fórmula II con cloruro sulfurilo y azida de sodio o potacio para generar compuestos de las fórmula:



en donde R_3 es como se define anteriormente, que da dispuestos de la reducción del grupo azido compuestos de la fórmula I, en donde R_1 y R_2 representan hidrógeno, o

β) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II con ClSO_2NCO , seguido por hidrólisis acuosa para producir compuestos de la fórmula I, en donde R_1 y R_2 representan hidrógeno, o

γ) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II con un compuesto de la fórmula:



en donde R_1 y R_2 son como se definieron anteriormente, e Y es un grupo saliente, por ejemplo halógeno, de preferencia

93
87

cloro; en un solvente inerte, por ejemplo dimetilformamida o dimetilacetamida, con o sin la adición de una base orgánica, tal como una amina terciaria orgánica, o una base inorgánica, por ejemplo un carbonato alcalino (de hidrógeno) o un hidruro alcalino, de preferencia hidruro de sodio.

El proceso b) se efectúa mediante N-alquilación, y N-acilación, utilizando, sulfatos o mesilatos, de preferencia alquiliodidas o haluros de acilo; haluros de alcóxicarbonilo, de preferencia cloruros, en la presencia de una base adecuada, de preferencia un carbonato de metal alcalino o un hidruro de metal alcalino, en un solvente inerte, de preferencia un solvente polar, tal como acetona o dimetilformamida, a temperaturas entre aproximadamente -20°C y aproximadamente $+120^{\circ}\text{C}$, de preferencia entre la temperatura ambiente y 60°C .

Los materiales de partida y compuestos intermediarios son ambos conocidos y se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos o análogamente como se describe en los ejemplos.

Los siguientes ejemplos, que ilustran la invención pero no la limitan de ninguna forma, las referencias de temperaturas están en grados Celsius.

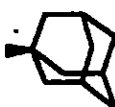
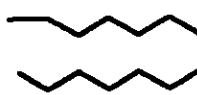
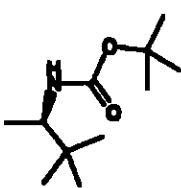
Ejemplo 1: 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-iléster del ácido sulfámico (proceso a)

94
80

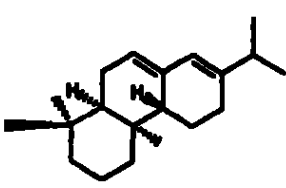
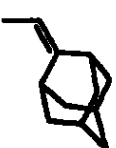
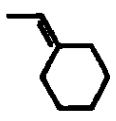
Se agregan 74 miligramos de 2,6-diterbutil-4-metilpiridina y 83 miligramos de cloruro de amidosulfonilo a una solución de 50 miligramos de 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol en 5 mililitros de una mezcla de diclorometano y dimetilformamida, y la mezcla obtenida se agita temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas. El solvente se evapora, y el residuo obtenido se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo = 2/1). En el curso de evaporación ocurre la cristalización del solvente. p.f. = 147-150°.

De una manera análoga como se describe en el ejemplo 1 los siguientes compuestos de la invención se pueden preparar ($R_1 = R_2 = H$):

95
89

Ejemplo	R ₃	p.f.
2		140-143°
3		97-100°
4		99-101°
5	-CH ₂ CH(C ₆ H ₅) ₂	145-148°
6	-CH ₂ C(C ₆ H ₅) ₃	180-180°
7	-CH ₂ CH(C ₆ H ₁₁) ₂	66-72°
8		asite
9		164-166°

96
90

10		82-88°
11		172-174°
12		68-73°
13		149-152°

Ejemplo 8: $^1\text{H-NRM}$ (CDCl_3): 7.54 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 2.2 + 8.7$ Hz, 1H), 5.92 (bs, 2H), 5.72 (bd, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (s, 9H).

Los fenóles utilizados como materiales de partida y los intermediarios se pueden obtener como sigue:

A) 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol (fórmula II)

A una mezcla de 424 miligramos de 2-(adamantan-1-il)-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida (fórmula VII), y 1.18 gramos de trifenilfosfano en 15 mililitros de tetrahidrofurano seco, se agregan por goteo 0.7 mililitros de azodicarboxilato de dietilo (DEAD). La mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente, el solvente se evapora, y el residuo se

2A
a1

purifica mediante cromatografía de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo = 3/1 → 2/1), produciendo un 2-(adamanta-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol. p.f. 247-251°.

De una manera análoga a la descrita anteriormente, y utilizando los materiales de partida apropiados, se preparan los siguientes compuestos de la fórmula II:

- 2-(2,2-dimetilpropil)benzoxazol-6-ol (p.f. 176-184°C);
- 2-(adamantan-1-il)benzoxazol-6-ol (p.f. 260-265°C);
- 2-tridecil-benzoxazol-6-ol (p.f. 72-73°C);
- 2-(2,2-difeniletil)benzoxazol-6-ol (p.f. 182-206°C);
- 2-(2,2,2-trifeniletil)benzoxazol-6-ol (p.f. 150-155°C);
- 2-diciclohexilmetil-benzoxazol-6-ol (p.f. 196-204°C);
- terbutiléter del ácido [1-(6-hidroxi-benzoxazol-2-il)-2,2-dimetilpropil]carbámico (p.f. 131-160°C);
- 2-(hexahidro-2,5-metano-pentalen-3a-il)benzoxazol-6-ol (p.f. 241-243°C);
- 2-(7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahidrofenantren-1-il)-benzoxazol-6-ol (p.f. 90-95°C);
- 2-(ciclohexilidenmetil)benzoxazol-6-ol (p.f. 158-162°C);

B) 2-terbutil-benzoxazol-6-ol

Una mezcla de 1.01 mililitros de cloruro de pivaloilo, 808 miligramos de 2,4-dihidroxianilina.clorohidrato y 0.4 mililitros de piridina se calientan a 210° por 18 horas.

Luego la mezcla de reacción se dispersa en ciclohexano/acetato de etilo (2/1) y se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice con el mismo solvente proporcionando 2-adamantan-1-ilmetil-benzoxazol-6-ol puro p.f. = 204-210°

C) 2-(adamantan-2-ilidenometil)benzoxazol-6-ol

6.6 gramos de 2-metil-benzoxazol-6-ol se disuelven en 100 mililitros de tetrahidrofurano seco, se enfría a 0° y se agregan la base de Huning y cloruro de trimetilsililo. Luego el baño de hielo se remueve y se continua la agitación durante 2 horas. Para la deprotonación la mezcla de reacción se enfría a -78° y se agrega una solución NaHMDS dentro de 20 minutos. Después de una hora adicional, se agrega el sólido 2-adamantanona y se mantiene a -78° durante otra hora. Luego la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente, se vierte en 300 mililitros de solución NaHSO₄ de 1M y se extrae con 700 mililitros de acetato de etilo. La capa orgánica se lava una vez con solución NaHSO₄ de 1M, dos veces con salmuera y se seca sobre sulfato de sodio. El solvente se evapora y el residuo obtenido se vuelve a disolver en 240 mililitros de tolueno y 3.1 mililitros de ácido trifluoroacético mediante calentamiento de la mezcla de reacción a 115° durante 7 horas. El enfriamiento a temperatura ambiente se acompaña por cristalización. La

9/03

filtración da el trifluoroacetato del compuesto del título. La recristalización a partir de etanol da 2-(adamantan-2-ilidenemetil)benzoxazol-6-ol.

De una manera análoga, como se describió anteriormente, se puede preparar el siguiente compuesto:

2-ciclohexilidenemetil-benzoxazol-6-ol

Las anilidas utilizadas como materiales de partida en A) se pueden preparar de la siguiente manera:

a) 2(adamantan-1-il)-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida

Se agrega 1.05 mililitros de una base de Huning a una solución de 323 miligramos de clorhidrato de 2,4-dihidroxianilina, 388 miligramos del ácido (adamantan-1-il)acético, y 1.2 mililitros de anhídrido propilfosfónico (al 50 por ciento en acetato de etilo) en 20 mililitros de diclorometano seco a 0°C. La mezcla obtenida se agita durante aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, luego se evapora el solvente y el residuo se disuelve en 50 mililitros de acetato de etilo, y se extrae con ácido clorhídrico acuoso 1M, una solución acuosa saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio, y el solvente se evapora para obtener una 2-adamantan-1-il-N-(2,4-dihidrofenil)-acetamida p.f. = 195-197°.

De una manera análoga como se describió anteriormente, se pueden preparar los siguientes compuestos:

100
94

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3-dimetil-butiramida: $^1\text{H-NMR}$
(CDCl_3): 7.41 (s, 1H), 6.78 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.34 (dd, $J = 2.7 + 8.5$ Hz, 1H), 2.29 (s, 2H), 1.10 (s, 9H).

Acido adamantana-1-carboxilico (2,4-hidroxi-fenil)amida:
p.f. = 108-110°

Acido tetradecanóico (2,4-hidroxi-fenil)amida: p.f. =
110-112°

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3-difenil-propionamida: p.f. =
206-208°

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3,3-trifenil-propilamida: p.f.
= 234-235°

2,2-diciclohexil-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida: p.f.
= 179-181°

Ester de terbutilo de acido [1-(2,4-dihidroxi-fenilcarbamoilo)-2,2-dimetil-propil]carbamico: p.f. = 89-91°

Acido hexahidro-2,5-metano-pentaleno-3 α -carboxílico
(2,4-dihidroxi-fenil)amida: p.f. = 204-206°

Acido 7-isopropil-1,4 α -dimetil-1,2,3,4,4 α ,5,6,10,10 α -
decahidro-fenantren-1-carboxílico (2,4-hidroxi-fenil)amida:
p.f. = 200-207°

b) 2-adamantan-2-iliden-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida

3.0 gramos del ácido adamantan-2-ilidenacético, 5.91
gramos de trifenilfosfano, y 4.95 gramos de disulfuro de
dipiridilo, disueltos en 100 mililitros de diclorometano, se

101
05

agitan a temperatura ambiente durante la noche. Se le agrega 5.13 mililitros de base de Huning, y 4.83 gramos de clorhidrato de 2,4-dihidroxianilina, y la mezcla se agita durante aproximadamente 24 horas, se evapora el solvente, se disuelve el residuo en acetato de etilo, y se extrae con una solución acuosa saturada de NaH_2PO_4 , y se salmuera. La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora el solvente. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía con ciclohexano/acetato de etilo (2/1) produciendo 2-adamnta-2-ilideno-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida p.f. 166-169°.

De una manera analoga como se describió anteriormente, se puede preparar el siguiente compuesto:

2-ciclohexilideno-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida: ^1H -NMR (CDCl_3): 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.27 (dd, $J = 2.7 + 8.6$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 2.82 (bm, 2H), 2.16 (bm, 2H), 1.60 (s, 6H).

Las hormonas esteroideas, en particular los tejidos, están asociadas con varias enfermedades, tales como tumores del pecho, del endometrio, y de la próstata, y desórdenes de la unidad pilosebacea, por ejemplo, acné, alopecia androgenética, y hirsutismo. Los precursores importantes para la producción local de estas hormonas de esteroides, son los 3-O-sulfatos de esteroides, que se desulfatan mediante la enzima sulfatasa de esteroide en los

for
of

tejidos blanco. La inhibición de esta enzima da como resultado niveles locales reducidos terapéuticamente relevantes de las hormonas esteroidales activas correspondientes. Además, los inhibidores de sulfatasa de esteroide también pueden ser útiles como inmunosupresores, y pueden mejorar la memoria cuando se suministran al cerebro. Son novedosas las funciones de los inhibidores de sulfatasa de esteroide en el tratamiento de acne y otros desórdenes de la piel dependientes de andrógeno, como propósito de la actual invención.

El acne es una enfermedad polietiológica causada por la interacción de numerosos factores, tales como herencia, suero, hormonas y bacterias. El factor causador más importante en acne es la producción de suero; en la mayoría de los casos todos los pacientes de acne la glándula sebacea es mayor y produce más suero que en personas con piel saludable. El desarrollo de la glándula sebacea y la ampliación de la producción de suero se controla hormonalmente, mediante andrógenos; por consiguiente, los andrógenos juegan un papel crucial en la patogénesis del acne. En el hombre, hay dos fuentes mayores que proveen andrógenos al tejido blanco: (i) las gónadas que secretan testosterona, (ii) las suprarrenales que producen dehisroepiandrosterona (DHEA) que se secreta como el sulfato conjugado (DHEAS). Se convierten tanto la testosterona como

107
a7

DHEAS al andrógeno más activo, dihidrotestosterona (DHT), en el tejido blanco, por ejemplo, en la piel. Hay evidencia que este sendero de síntesis local de DHT en la piel son más importantes que proveer directamente con andrógenos activos para la circulación. Por consiguiente, la reducción de los niveles de endogenos de andrógenos en el tejido blanco mediante inhibidores específicos puede ser un beneficio terapéutico en acné y seborrea. Además, abre la perspectiva para tratar estos desórdenes a través de modulación de niveles de andrógeno local mediante tratamiento tópico, mejor que niveles de hormona circulando influenciando mediante terapias sistémicas.

La alopecia masculina androgenética es muy común en las razas blancas, contando con aproximadamente el 95 por ciento de todos los tipos de alopecia. La calvicie patrón masculino es causada por un número incrementado de folículos de cabello en el cuero cabelludo introduciendo la fase de telogen perdiendo longitud. La perdida de cabello resultante se determina genéticamente a través de andrógenos. Suero de dehidroepiandrosterona elevada, pero se han reportado niveles testosterona normal en calvicie de hombres comparados con controles sin calvicie, implicando que la producción de andrógeno del tejido blanco es importante en alopeci androgenética.

El hirsutismo es el espezador y potenciador patológico

del cabello que está caracterizado por un patrón masculino del crecimiento de vabello en niños y mujeres. El hirsutismo es andrógeno inducido, tanto por formación de andrógenos incrementada, o por sesibilidad del folículo de cabello incrementada para andrógenos.

Por consiguiente, una terapia resultante en reducción de niveles de endrogénos de andógenos y/o estógenos en el tejido blanco (piel) puede ser efectivo en acne, alopecia androgenética e hirsutismo.

Dihidrotestosterona (DHT), el andrógeno más activo se sintetiza en la piel a partir del precursor sistémico abundante de sulfato dehidroepiandrosterona (DHEAS); el primer paso en la senda metabólica a partir de DHEAS a DTH es la desulfatación de (DHEAS) mediante la enzima de sulfatasa de esteroide para producir DHEA. La presencia de la enzima en ceratinocitos y en los fibroblastos derivados de la piel se han descrito. El uso potencial de inhibidores de sulfatasa de esteroide para la reducción de niveles endógenos de hormonas de esteroides en la piel se confirmó utilizando inhibidores de sulfatasa de esteroide, tales como estrona 3-O-sulfamato y 4-metilumbeliferil-7-O-sulfamato. Encontramos que inhibidores de sulfatasa de esteroide de placenta también son inhibidores de la enzima preparada a partir de queratinocita (HaCaT) humana, o una línea de célula de fibroblasto derivado de piel humana (1BR3GN). Los

103
99

inhibidores tambien mostrarón el bloque de sulfatasa de esteroide en monocapas intactas de la queratinocita HaCaT.

Por consiguiente, los inhibidores de sulfatasa de esteroide se puede utilizar para reducir los niveles de andrógeno y estrógeno en la piel. Se pueden utilizar como inhibidores de sulfatasa de esteroide de enzima para el tratamiento local de desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad pilosebacea (tal como acne, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo) y para tratamientos locales de carcinoma de célula escamosa.

Además, los inhibidores de sulfatasa de esteroide no esteroidal y sus usos para el tratamiento de desórdenes en los cuales los productos de esteroide de la hendidura de sulfatasa juega un papel. Las indicaciones para estos inhibidores novedosos incluye desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad de pilosebaceo (tal como acne, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo); tumores dependientes de estrógeno o andrógeno, tales que carciomas de células escamosas y neoplásmos de, por ejemplo, el pecho, endometrio, y próstata; para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, tales como artritis reumatoide, diabetes tipo I y II, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, miasternia gravis, tiroiditis, vasculitis, colitis ulcerativa, y enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis de contacto, enfermedad de hospedero contra injerto, eczema,

106
100

asma y descartamiento de órgano, seguido de transplatación.

Los inhibidores de sulfatasa de esteroide también es útil para el tratamiento de cancer, especialmente, para el tratamiento de canceres dependientes de estrógeno y andrógeno, tal como cancer del pecho y endometrio y carcinoma de célula escamosas, y cancer de próstata.

Inhibidores de sulfatasa de esteroide también es útil para el mejoramiento de la función cognitiva, especialmente en el tratamiento de demencia senil, incluyendo Alzheimer, mediante increento de los niveles de DHEAS en el sistema nervioso central.

Estas actividades se pueden mostrar en el siguiente sistema de prueba.

Purificación de sulfatasa de esteroide humano.

La placenta humana se obtiene fresca después de repartir y despojar las membranas y tejido conectivo. Para almacenaje, el material se congeló -70°C . Después de derretir , todos los pasos adicionales se llevan a cabo a 4°C , mientras los valores de pH se ajustaron a 20°C . 400^o gramos del tejido se homogenizó en un regulador A de 1.2 litros (Tris-HCL 50mM, pH 7.4, sacarosa 0.25M). El homogeneizado se centrifugó a 10,000 xg durante 45 minutos. El sobrnadante se guardó y las píldoras se rehomogeneizaron en un regulador A de 500 mililitros. Después de la

centrifugación, los dos sobrenadantes se combinaron y sujetos a ultracentrifugación (100,000 xg, 1 hora). La pílora se suspendió en 50 mililitros Tris-HCL 50 mM, pH 7.4, y almacenado a -20°C, hasta adelantarse adicionalmente. Después de deshielar, los microsomas se recolectaron mediante ultracentrifugación (como anteriormente) y suspendieron en regulador B 50 mililitros (Tris-HCl 10 mM, pH 7.0, EDTA 1m, 2-mercaptpetanol 2 mM, Triton X-100 al 1 por ciento, apoptina al 0.1 por ciento). Después de 1 hora de hielo con agitación gentil, la suspensión se centrifugó (100,000 xg, 1 hora). El sobrenadante que contiene la actividad enzimática se recolectó y el pH se ajustó a 8.0 con Tris 1 M.

Luego la solución se aplica a una columna aparita de hidróxido (2.6x20 centímetros), equilibrados con regulador B, p.H. 8.0. La columna se lavó con regulador B hasta un rango corriente de 2 mililitros/minuto. La actividad se recubrió a través de la corriente. El estanque se ajustó el pH 7.4 y se objetivizó y se sujeto para cromatografía en una sefarosa concanavalina A (16x 10 centímetros) se equilibró en un regulador C (Tris-HCL 20, pH 7.4, Triton X-100, NaCl 0.5 M). La colmna se lavó con regulador C y luego la proteína rebota se eluye con el 10 por ciento de metil manosida en regulador C. La fracción activa se estancó y dializado contra el regulador D (Tris-CHl 20 mM, pH 8.0, EDTA 1mM, Triton X-100 al 0.1 por ciento, glicerol al 10 por ciento

108
p2

(volumen/volumen)).

El retentato se aplicó a una columna de sefarosa azul (0.8x10 centímetros) equilibrada con regulador D; la columna se lavó y luego se eluyó con un gradiente lineal del regulador D al NaCl 2 M en regulador D. Las fracciones activas se estancaron, consentradas como se requiere (Centricon 10), diálisis contra regulador D y almacenado en alícuotas a -20°C.

Ensayo de sulfatasa de esteroide humana

Se sabe que sulfatasa esteroide humana preferida no solo es capaz de unir sulfatos de esteroide, pero no sólo es capaz de hundir sulfatos de esteroideas, pero también hundir prontamente, sulfatos de arilo, tales como sulfatos p-nitrocatecola, se utilizó en la presente. Ensayos de mezclas se prepararon mediante dispersión consecutivamente que las siguientes soluciones en los platos micronerviosos de botón llano de pozo.

1) 50 microlitros de dilución inhibidora en regulador (= Tris-HCl 0.1 M, pH de 7.5, Triton X-100 al 0.1 por ciento);

2) 50 microlitros de sustrato (= sulfato de p-nitrocatecol 20 mM en regulador);

3) 50 microlitros de dilución enzimática para dar una concentración final de sulfatasa de esteroide 75 nM.

109
103

Las placas se incuban a 37°C durante 30 minutos luego ensayo se detiene mediante la adición de 100 microlitros de NaOH 1N y se mide la densidad óptica en un lector de microplacas a 492 nanómetros. Los compuestos se agregan a partir de las soluciones de suministro en etanol; la concentración final de etanol no excede al 0.1 por ciento. Se calculan los valores IC₅₀ mediante regresión no lineal de los datos de concentración/densidad óptica, utilizando el programa Grafit (Erithacus Ltd.) Los valores reportados son el resultado de tres determinaciones.

Calculo de los valores relativos IC₅₀

A partir de los datos de intensidad de fluorescencia (I) obtenidos en diferentes concentraciones (c) del compuesto de prueba, se calcula la concentración que inhibe la actividad enzimática por el 50 por ciento (IC₅₀), utilizando la ecuación:

$$I = \frac{I_{100}}{1 + (c/IC_{50})^s}$$

En donde I₁₀₀ es la intensidad observada en ausencia de inhibidor, y s es el factor de inclinación.

Ese estron-3-O-sulfamato sirve como un compuesto de referencia, y su valor IC₅₀ se determinó en paralelo con los compuestos de prueba. Los valores IC₅₀ relativos (rel IC₅₀)

110
104

se definen como sigue:

$$\text{rel IC}_{50} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ del compuesto de prueba}}{\text{IC}_{50} \text{ de estrona-sulfato}}$$

El sulfamato de estrona mostró un valor IC_{50} de aproximadamente 60 nM. Los compuestos de la invención inhiben la sulfatasa de esteroide con una IC_{50} rel en la escala de 0.006 a 30.

Actividad de sulfatasa de esteroide en extractos celulares.

Se cultivaron queratinocitos de HaCaT o fibroblastos 1BR3GN hasta la confluencia utilizando técnicas de cultivo celular convencionales. Las células se cosecharon mediante tripsinización, se lavaron una vez con suero regulado con fosfato, y se suspendieron en Tris-HCl 20 mM, pH de 8.0. La suspensión se sonicó y luego se centrifugó a 12,000 x g durante 30 minutos. El sobrenadante se sometió a ultracentrifugación a 100,000 x g durante 60 minutos. El gránulo microsómico resultante se volvió a suspender en regulador conteniendo Triton X-100 al 0.1 por ciento, y se dejó reposando durante 30 minutos. Después de una centrifugación adicional a 100,000 x g durante 30 minutos, se removi6 el sobrenadante que contenía la enzima solubilizada, y se almacenó a 4°C

Para el ensayo de la actividad enzimática, se agregaron 10 microlitros de solución enzimática a 100 microlitros de sulfato de deshidroepiandrosterona 50 μM (DHEAS)

48
105

conteniendo aproximadamente 60,000 dpm [^3H]DHEAS (21 Ci/milimol) en Tris-HCl 0.1 M, pH de 7.5, Triton X-100 al 0.1 por ciento. Los compuestos de prueba se incluyeron en diferentes concentraciones; se agregaron a partir de soluciones de suministro en sulfóxido de dimetilo. Después de la incubación durante 30 minutos a 37°C, se agregaron 250 microlitros de NaOH 1 N. La mezcla se extrajo con 1 mililitro de tolueno. Se sometieron 800 microlitros de la capa orgánica a cintilación de líquidos, contando para determinar la fracción del sustrato que se disoció hasta deshidroepiandrosterona (DHEA). Los valores IC_{50} se calcularon en analogía con el método descrito anteriormente.

Se encontró que el sulfamato de estrona inhibe la sulfatasa de esteroide con una IC_{50} en la escala de 1 a 5 nM, dependiendo de la concentración de enzima utilizada.

Incubación de queratinocitos HaCaT con DHEAS.

Se cultivaron células HaCaT en modificación con Dulbecco de medio de Eagle (DMEM) complementado con suero fetal de becerro al 10 por ciento (FCS). Se cultivaron hasta la confluencia, y luego se cosecharon mediante tripsinización. Se dosificaron aproximadamente $2 \cdot 10^6$ células en platos de 9.6 centímetros cuadrados, y se incubaron en un medio que contenía suero fetal de becerro, hasta que se alcanzó la confluencia. Luego se cambió el medio a DMEM exento de suero (1.5 mililitros por pozo); se incluyó DHEAS como un sustrato, en una concentración de 0.3 μM con 1.5 μCi /pozo [^3H]DHEAS (21

✓
106

Ci/milimol) como rastreador. La incubación se continuó durante 96 horas. Los compuestos de prueba se agregaron a partir de soluciones de suministro en etanol; la concentración de etanol final en el ensayo no excedió del 1 por ciento. En paralelo, También se incubó DHEAS con el medio sin células como un control para la hidrólisis no enzimática. Después de la incubación, se removió el sobrenadante, y se extrajo 1 mililitro con 4 mililitros de tolueno. Se recolectaron 3 mililitros de la capa orgánica, y el solvente se evaporó al vacío. El residuo se recuperó en acetonitrilo. Se incluyeron 10 microgramos de DHEA como portador. El extracto se analizó mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento utilizando una columna RP C-8 y elución isocrática con sulfato de amonio 10 mM, pH de 6/acetonitrilo 60:40, a una velocidad de flujo de 1 mililitro/minuto. La cantidad de DHEA disociada durante las incubaciones se calculó a partir del área del pico radioactivo correspondiente, determinado mediante monitoreo continuo con un radiodetector equipado con una celda de flujo. A partir de los datos obtenidos en diferentes concentraciones de los compuestos de prueba, se calcularon los valores IC_{50} e IC_{50} rel como se describió anteriormente para el ensayo utilizando enzima purificada. El valor IC_{50} para el sulfamato de estrona fue de aproximadamente 0.1 nM. Los compuestos de la invención mostraron valores IC_{50} rel en la escala de 0.1 a 100.

Por consiguiente, los compuestos de la invención se indican para utilizarse como inhibidores de sulfatasa de

13
107

esteroide, en el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y de andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer.

Para este uso, la dosificación que se vaya a utilizar variará, por supuesto, dependiendo, por ejemplo, del compuesto particular empleado, del modo de administración, y del tratamiento deseado. Sin embargo, en general se obtienen resultados satisfactorios cuando los compuestos se administran en una dosificación diaria de aproximadamente 0.1 miligramos/kilogramo a aproximadamente 100 miligramos/kilogramo de peso del cuerpo del animal, adecuadamente dados en dosis divididas de dos a cuatro veces al día. Para la mayoría de los mamíferos superiores, la dosificación diaria total es de aproximadamente 5 miligramos a aproximadamente 5000 miligramos, convenientemente administrados, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día, o en una forma retardada. Las formas de dosificación unitaria comprenden, por ejemplo, de aproximadamente 1.25 miligramos a aproximadamente 2000 miligramos de los compuestos mezclados con cuando menos un vehículo o diluyente sólido o líquido farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención se pueden administrar de una manera similar a los estándares conocidos para utilizarse en esas indicaciones. Los compuestos se pueden

1/4
108

mezclar con vehículos y diluyentes quimioterapéuticamente aceptables convencionales, y opcionalmente, excipientes adicionales, y se administran, por ejemplo, oralmente en formas tales como tabletas y cápsulas.

De una manera alternativa, los compuestos se pueden administrar tópicamente en formas convencionales tales como ungüentos o cremas, parenteralmente o intravenosamente. Las concentraciones de la sustancia activa, por supuesto, variará dependiendo, por ejemplo, del compuesto empleado, del tratamiento deseado, y de la naturaleza de la forma. Sin embargo, en general se obtienen resultados satisfactorios, por ejemplo, en las formas de aplicación tópica en concentraciones de aproximadamente el 0.05 a aproximadamente el 5 por ciento, particularmente de aproximadamente el 0.1 a aproximadamente el 1 por ciento.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención, junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable también forman parte de la invención, así como un proceso para su preparación, mediante su mezcla junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La invención también comprende a los compuestos de la invención para utilizarse como productos farmacéuticos, especialmente en la prevención o en el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y

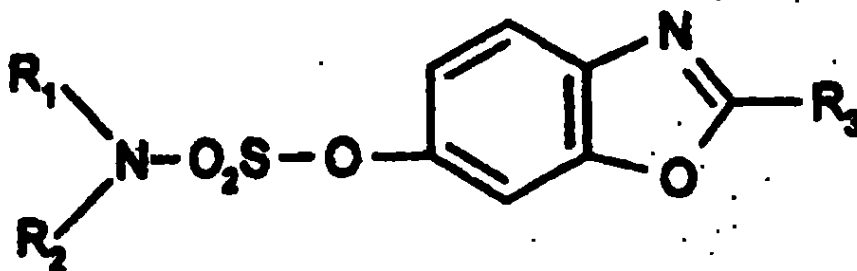
118
109

andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer.

La invención comprende además un método para la prevención o el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención a un sujeto que necesite dicho tratamiento.

46
110REIVINDICACIONES

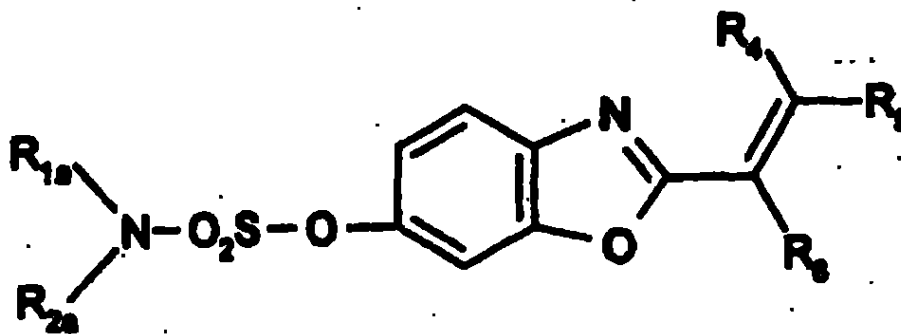
1. Compuestos orgánicos de la fórmula:



en donde:

R_1 y R_2 son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcóxicarbonilo; R_3 representa alquilo; alquénilo; alquínilo; acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicitcloheximetilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma libre y, cuando existan estas formas, en forma de sal.

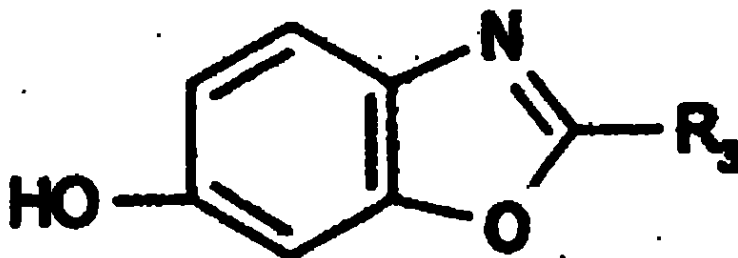
2. Compuestos de la fórmula:



en donde R_{1a} y R_{2a} son iguales o diferentes y representan hidrógeno o alquilo, R_4 , R_5 , R_6 representan hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, acilo, cicloalquilalquilo, camfenilo, adamantilol, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, díciclohexilmetilo, heteroarilo, y heteroalquilalquilo, por lo cual, arilo, cicloalquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoxilo, o halógeno, en forma libre y, donde existan estas formas, en forma de sal.

3. Procesos para la preparación de compuestos de la fórmula I como se definieron en la reivindicación 1, comprendiendo:

a) sulfamoylar un compuesto de la fórmula:



en donde R_3 es como se definió anteriormente, de acuerdo con los métodos conocidos, ó

b) para la preparación de compuestos de la fórmula I, en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 son

48
112

alquilo, acilo o alcoxycarbonilo, N-alquilación o N-acilación de los compuestos de la fórmula I en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 es hidrógeno,

y recobrando los compuestos así obtenidos de la fórmula I en forma libre, o cuando estas formas existan, en forma de sales. 4. Uso de inhibidores de sulfatasa de esteroide no esteroideal para el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad de pilosebaceos.

5. Uso de inhibidores de sulfatasa de esteroide no esteroideal para el tratamiento de acne, seborrea, alopecia androgenética e hirsutismo.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I como se define en la reivindicación 1, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

7. Un proceso para la preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, el cual comprende mezclar un compuesto de la fórmula I con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para uso como producto farmacéutico.

9. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de desórdenes, en donde los productos de esteroides de la hendidura de sulfatasa

44
113

juegan un papel.

10. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógeno, de la unidad de pilosebaceos, de tumores dependientes de estrógeno o andrógeno, de enfermedades inflamatorias, de enfermedades autoinmunes y de demencia.

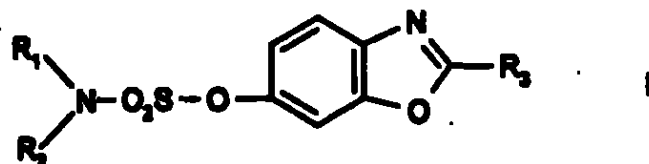
11. Uso de compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de acne, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, carcinoma de células escamosas y neoplasmos del pecho, endometrio y próstata.

12. Un método para el tratamiento que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I como se describe en la reivindicación 1, en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable a partir del sujeto que necesite de este tratamiento.

...

120
114RESUMEN

La invención conciene compuestos orgánicos de la fórmula:



en donde:

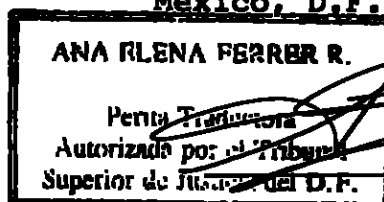
R₁ y R₂ son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcóxicarbonilo; R₃ representa alquilo; alquénilo; alquinilo, acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicitcloheximetilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma libre y, cuando existan estas formas, en forma de sal, procesos para la producción de los mismos y sus usos como productos farmacéuticos.

1999-11-17 SR/rb

winword/anmeld/nfi/wa/900/9941.doc

Yo, ANA ELENA FERRER RAMÍREZ, Perita Traductora Autorizada por el Tribunal Superior de Justicia del D.F., y miembro de la Organización Mexicana de Traductores, A.C., con domicilio en Av. Clavería 224-205, Col. Clavería, México, D.F. 02080, Tels. 5396 2669 y 5396 5201, certifico que el documento precedente es, a mi leal saber y entender, una traducción fiel y exacta del documento original en idioma inglés que tuve a la vista.

México, D.F., 13 de noviembre de 2000.



Ana Elena Ferrer Ramírez



2386.



INVESTOR IN PEOPLE

126
116

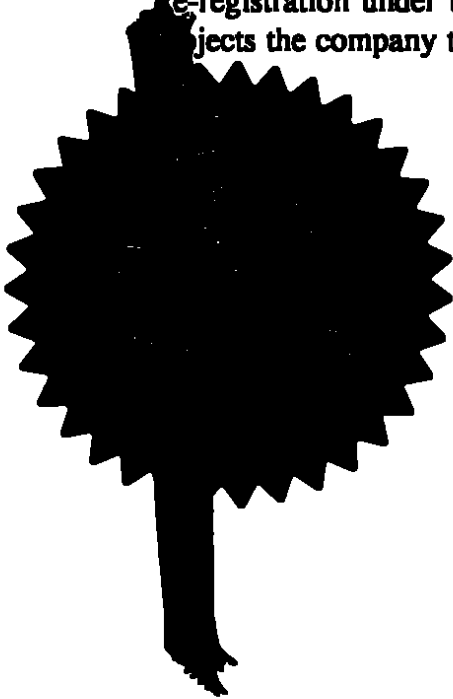
The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.



Signed *R. Mahoney*
Dated 10 October 2000

28 MAR 2000

The
Patent
Office

1/77

123
117

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)

28 MAR 2000

The Patent Office

Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1.	Your reference	4-31200P2 NFI 9941/A		
2.	Patent application number (The Patent Office will fill in this part)	0007511.9		
3.	Full name, address and postcode of the or of each applicant (underline all surnames)	NOVARTIS AG SCHWARZWALDALLEE 216 4058 BASEL SWITZERLAND		
	Patent ADP number (if you know it)	7125487002		
	If the applicant is a corporate body, give the country/state of its incorporation	SWITZERLAND		
4.	Title of invention	ORGANIC COMPOUNDS		
5.	Name of your agent (if you have one)	B.A. YORKE & CO.		
	"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent (including the postcode)	CHARTERED PATENT AGENTS COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD ISLEWORTH MIDDLESEX TW7 6NH		
	Patents ADP number (if you know it)	1800001 ✓		
6.	If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and the date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number	Country	Priority application number (if you know it)	Date of filing (day/month/year)
7.	If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application	Number of earlier application	Date of filing (day/month/year)	
8.	Is a statement of inventorship and of right to grant of a patent required in support of this request? (Answer 'Yes' if:	Yes		
	a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or			
	b) there is an inventor who is not named as an applicant, or			
	c) any named applicant is a corporate body.			
	(see note (d))			

Patents Form 1/77

9. Enter the number of sheets for any of the following items you are filing with this form. Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form

Description 14/

Claim(s) 3/

Abstract 1/

Drawing(s)

10. If you are also filing any of the following, state how many against each item.

Priority documents

Translations of priority documents

Statement of inventorship and right to grant of a patent (*Patents Form 7/77*)

Request for preliminary examination and search (*Patents Form 9/77*)

Request for substantive examination (*Patents Form 10/77*)

Any other documents
(please specify)

11.

I/We request the grant of a patent on the basis of this application

Signature

Date

B. A. Yorke & Co.

B.A. Yorke & Co.

28.03.00

12. Name and daytime telephone number of person to contact in the United Kingdom

Mrs. E. Cheetham
020 8580 5847

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication or communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the Patents Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been revoked.

Notes

- If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.*
- Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.*
- If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form.*
- Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.*
- For details of the fee and ways to pay please contact the Patent Office.*

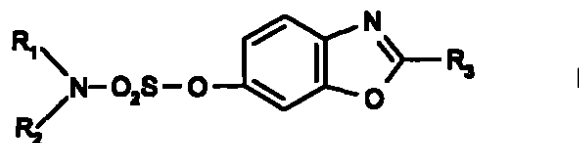
Patents Form 1/77

129
118

Organic compounds

The invention concerns new non-steroidal steroid sulfatase inhibitors and their use for the treatment of disorders characterized by increased levels of hormonally active steroids.

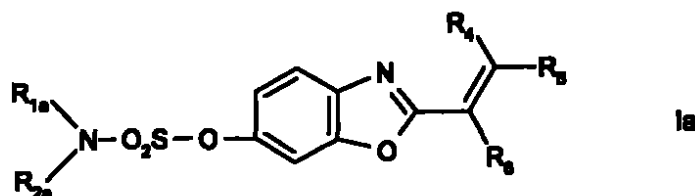
More particularly the invention concerns organic compounds of formula



wherein R_1 and R_2 are the same or different and represent hydrogen, acyl, alkoxycarbonyl or alkyl, R_3 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkinyl, adamantylalkyl, adamantylalkenyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, hexahydro-2,5-methano-pentalen-3a-yl, 7-isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydrophenanthren-1-yl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form, herein briefly named "compounds of the invention", processes for production thereof and their use as pharmaceuticals.

Alkyl as such or as part of a substituent is of 1 to 4 carbon atoms, it particularly is methyl, ethyl or t-butyl. Acyl preferably is the residue of a carbocyclic acid, in particular an alkyl, arylalkyl or aryl carbocyclic acid. Aryl preferably represents phenyl or tolyl. Cycloalkyl represents preferably cyclopropyl, cyclohexyl or cyclopentyl. Heteroaryl represents preferably pyridyl or thienyl.

A preferred subgroup of compounds of the invention are compounds of formula

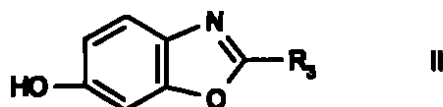


wherein R_{1a} and R_{2a} are the same or different and represent hydrogen or alkyl, R_4 , R_5 and R_6 are the same or different and represent hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkinyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl,

heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form, herein briefly named "compounds of the invention", processes for production thereof and their use as pharmaceuticals.

The present invention also provides processes for the preparation of compounds of formula I, comprising

- a) sulfamoylation of compounds of formula



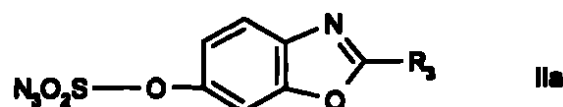
wherein R_3 is as defined above, according to known methods, or

- b) for the preparation of compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is alkyl, acyl or alkoxycarbonyl, N-alkylating or N-acylating compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is hydrogen,

and recovering thus obtained compounds of formula I in free form or, where such forms exist, in salt form.

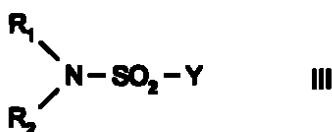
Process a) is performed using standard processes for sulfamoylation, e.g.

- α) reacting a phenolic starting material of formula II with sulfonyl chloride and sodium- or potassium azide to generate compounds of formula



wherein R_3 is as defined above, which give after reduction of the azide group compounds of formula I, wherein R_1 and R_2 represent hydrogen, or

- β) reacting a compound of formula II with ClSO_2NCO , followed by aqueous hydrolysis to yield compounds of formula I, wherein R_1 and R_2 represent hydrogen, or
 γ) reacting a compound of formula II with a compound of formula



wherein R_1 and R_2 are as defined above and Y is a leaving group, e.g. halogen, preferably chlorine, in an inert solvent, e.g. dimethylformamide or dimethylacetamide, with or without

119

addition of an organic base, such as an organic tertiary amine, or an inorganic base, e.g. an alkali(hydrogen)carbonate or alkali hydride, preferably sodium hydride.

Process b) is performed according to standard procedures for N-alkylation and N-acylation using alkyl halogenides, -sulfates or -mesylates, preferably alkyl iodides or acyl- or alkoxycarbonylhalides, preferably chlorides, in the presence of a suitable base, preferably alkali carbonates or alkali hydrides, in an inert and preferably polar solvent, such as acetone or dimethylformamide, at temperatures between -20 and 120°C, preferably between room temperature and 60°C.

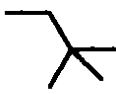
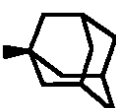
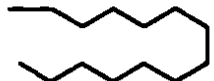
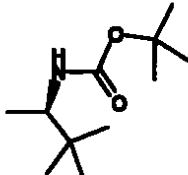
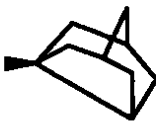
The starting materials and intermediate compounds are either known or can be prepared according to known methods or analogously as described in the examples.

In the following examples, which illustrate the invention but in no way limit its scope, references to temperatures are in degrees celsius:

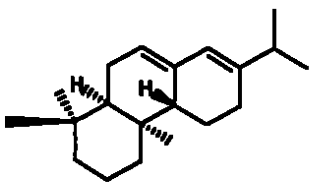
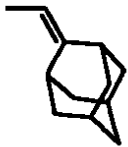
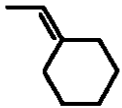
Example 1: Sulfamic acid 2-(adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-yl ester (process a)

To a solution of 50 mg of 2-adamantan-1-ylmethyl-benzoxazol-6-ol in 5 ml of a mixture of dichloromethane and dimethylformamide (9/1) 74 mg of 2,6-di-tert-butyl-4-methyl-pyridine and 83 mg of amidosulfonyl chloride are added and stirred at room temperature for 2 hours. The solvent is evaporated and the residue obtained is purified by chromatography on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate = 2/1). In course of evaporating the solvent crystallisation occurs. mp = 147-150°

Analogously as described in example 1 the following compounds of the invention can be prepared ($R_1 = R_2 = H$):

Ex.	R_3	mp
2		140-143°
3		97-100°
4		99-101°
5	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	145-148°
6	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	160-180°
7	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_{11})_2$	66-72°
8		oil
9		164-168°

125
120

10		92-99°
11		172-174°
12		68-73°
13		149-152°

Example 8: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7.54 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 2.2 + 8.7$ Hz, 1H), 5.92 (bs, 2H), 5.72 (bd, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (s, 9H).

The phenols used as starting materials can be prepared in the following manner.

A) 2-(Adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-ol

424 mg of 2-adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide and 1.18 g of triphenylphosphane are dissolved in 15 ml of dry tetrahydrofuran and 0.7 ml of diethyl azodicarboxylate (DEAD) are added dropwise. After stirring over night at room temperature the solvent is evaporated and the residue is purified by chromatography on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate = 3/1 $\rightarrow$ 2/1) yielding pure 2-(adamantan-1-ylmethyl)-benzoxazol-6-ol. mp = 247-251 °

Analogously as described above the following compounds can be prepared:

2-(2,2-Dimethyl-propyl)benzoxazol-6-ol: mp = 176-184 °

2-(Adamantan-1-yl)benzoxazol-6-ol: mp = 260-265 °

2-Tridecyl-benzoxazol-6-ol: mp = 72-73 °

2-(2,2-Diphenyl-ethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 182-206 °

2-(2,2,2-Triphenyl-ethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 150-155 °

2-Dicyclohexylmethyl-benzoxazol-6-ol: mp = 198-204 °

[1-(6-Hydroxy-benzoxazol-2-yl)-2,2-dimethyl-propyl]carbamic acid tert.-butyl ester: mp = 131-160 °

2-(Hexahydro-2,5-methano-pentalen-3a-yl)benzoxazol-6-ol: mp = 241-243 °

2-(7-Isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydro-phenanthren-1-yl)-benzoxazol-6-ol: mp = 90-95 °

2-(Adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol: mp = 248-253 °

2-Cyclohexylidenemethyl-benzoxazol-6-ol: 158-162 °

B) 2-tert.-Butyl-benzoxazol-6-ol

A mixture of 1.01 ml of pivaloyl chloride, 808 mg of 2,4-dihydroxyaniline.hydrochloride and 0.4 ml of pyridine are heated at 210 ° for 18 hours. Then the reaction mixture is dispersed in cyclohexane/ethyl acetate (2/1) and purified by chromatography on silica gel with the same solvent affording pure 2-adamantan-1-ylmethyl-benzoxazol-6-ol. mp = 204-210 °

C) 2-(Adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol

6.6 g of 2-methyl-benzoxazol-6-ol are dissolved in 100 ml of dry tetrahydrofuran, cooled to 0 ° and hung base and trimethylsilyl chloride are added. Then the ice bath is removed and stirring is continued for 2 hours. For the deprotonation the reaction mixture is cooled to -78 ° and NaHMDS-solution is added within 20 minutes. After an additional hour solid 2-adamantanone is added and kept at -78 ° for another hour. Then the reaction mixture is allowed to warm up to room temperature, poured into 300 ml of 1M NaHSO₄ solution and extracted with 700 ml of ethyl acetate. The organic layer is washed once with 1M NaHSO₄ solution, twice with brine and dried over sodium sulfate. The solvent is evaporated and the residue obtained is redissolved in 240 ml of toluene and 3.1 ml of trifluoroacetic acid by heating the reaction mixture to 115 ° for 7 hours. Cooling to room temperature is accompanied by crystallisation. Filtration gives the trifluoroacetate of the title compound. Recrystallisation from ethanol gives 2-(adamantan-2-ylidenemethyl)benzoxazol-6-ol.

Analogously as described above the following compound can be prepared:

2-Cyclohexylidenemethyl-benzoxazol-6-ol

127
121

The anilides used as starting materials in A) can be prepared in the following manner:

a) 2-Adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide

1.05 ml of hunig base are added to a solution of 323 mg of 2,4-dihydroxyaniline hydrochloride, 388 mg of adamantan-1-yl-acetic acid and 1.2 ml of propylphosphonic anhydride (50% in ethyl acetate) in 20 ml of dry dichloromethane at 0 °. The mixture is stirred for 18 hours at room temperature, then the solvent is evaporated and the residue dissolved in 50 ml of ethyl acetate and extracted with 1M aqueous hydrochloric acid, saturated aqueous NaHCO₃ solution and brine. The organic layer is dried over sodium sulfate and the solvent is evaporated to give 2-adamantan-1-yl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)-acetamide. mp = 195-197 °

Analogously as descibed above the following compounds can be prepared:

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3-dimethyl-butyramide: ¹H-NMR (CDCl₃): 7.41 (s, 1H), 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 2.7 + 8.5 Hz, 1H), 2.29 (s, 2H), 1.10 (s, 9H).

Adamantane-1-carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 108-110 °

Tetradecanoic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 110-112 °

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3-diphenyl-propionamide: mp = 206-208 °

N-(2,4-Dihydroxy-phenyl)-3,3,3-triphenyl-propionamide: mp = 234-235 °

2,2- Dicyclohexyl-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide: mp = 179-181 °

[1-(2,4-Dihydroxy-phenylcarbamoyl)-2,2-dimethyl-propyl]carbamic acid tert.-butyl ester: mp = 88-91 °

Hexahydro-2,5-methano-pentalene-3 α -carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 204-206 °

7-Isopropyl-1,4 α -dimethyl-1,2,3,4,4 α ,4 β ,5,6,10,10 α -decahydro-phenanthren-1-carboxylic acid (2,4-dihydroxy-phenyl)amide: mp = 200-207 °

b) 2-Adamantan-2-ylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide

3.0 g of adamantan-2-ylidene-acetic acid, 5.91 g of triphenylphosphane and 4.95 g of dipyridyldisulfide are dissolved in 100 ml of dichloromethane and stirred at room temperature over night. 5.13 ml of hunig base and 4.83 g of 2,4-dihydroxyaniline.hydrochloride are added and stirred for additional 24 hours, then the solvent is evaporated and

the residue dissolved in ethyl acetate and extracted with a saturated aqueous NaH_2PO_4 solution and brine. The organic layer is dried over sodium sulfate and the solvent is evaporated. The residue obtained is purified by chromatography on silica gel with cyclohexane/ethyl acetate (2/1) yielding 2-adamantan-2-ylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)-acetamide. mp = 166-169 °

Analogously as described above the following compound can be prepared:

2-Cyclohexylidene-N-(2,4-dihydroxy-phenyl)acetamide: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.27 (dd, $J = 2.7 + 8.6$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 2.82 (bm, 2H), 2.16 (bm, 2H), 1.60 (s, 6H).

Steroidal hormones in particular tissues are associated with several diseases, such as tumors of breast, endometrium and prostate, and disorders of the pilosebaceous unit, e.g., acne, androgenetic alopecia, and hirsutism. Important precursors for the local production of these steroid hormones are steroid 3-O-sulfates which are desulfated by the enzyme steroid sulfatase in the target tissues. Inhibition of this enzyme results in reduced local levels of the corresponding active steroidal hormones, which is expected to be of therapeutic relevance. Furthermore, steroid sulfatase inhibitors may be useful as immunosuppressive agents, and have been shown to enhance memory when delivered to the brain. The application of steroid sulfatase inhibitors in the treatment of acne and other androgen-dependent skin disorders, as proposed in the current invention, is new.

Acne is a polyetiological disease caused by the interplay of numerous factors, such as inheritance, sebum, hormones, and bacteria. The most important causative factor in acne is sebum production; in almost all acne patients sebaceous glands are larger and produce more sebum than do persons with healthy skin. The development of the sebaceous gland and the extent of sebum production is controlled hormonally by androgens; therefore, androgens play a crucial role in the pathogenesis of acne. In man, there are two major sources supplying androgens to target tissues: (i) the gonades which secrete testosterone, (ii) the adrenals producing dehydroepiandrosterone (DHEA) which is secreted as the sulfate conjugate (DHEAS). Testosterone and DHEAS are both converted to the most active androgen, dihydrotestosterone (DHT), in the target tissue, e.g. in the skin. There is evidence that these pathways of local synthesis of DHT in the skin are more important than direct supply with active androgens from the circulation. Therefore, reduction of endogeneous levels of androgens in the target tissue by specific inhibitors should be of

122

therapeutic benefit in acne and seborrhoea. Furthermore, it opens the perspective to treat these disorders through modulation of local androgen levels by topical treatment, rather than influencing circulating hormone levels by systemic therapies.

Androgenetic male alopecia is very common in the white races, accounting for about 95% of all types of alopecia. Male-pattern baldness is caused by an increased number of hair follicles in the scalp entering the telogen phase and by the telogen phase lasting longer. It is a genetically determined hair loss effected through androgens. Elevated serum dehydroepiandrosterone but normal testosterone levels have been reported in balding men compared with non-balding controls, implying that target tissue androgen production is important in androgenetic alopecia.

Hirsutism is the pathological thickening and strengthening of the hair which is characterized by a masculine pattern of hair growth in children and women. Hirsutism is androgen induced, either by increased formation of androgens or by increased sensitivity of the hair follicle to androgens.

Therefore, a therapy resulting in reduction of endogeneous levels of androgens and/or estrogens in the target tissue (skin) should be effective in acne, androgenetic alopecia and hirsutism.

Dihydrotestosterone (DHT), the most active androgen, is synthesized in the skin from the abundant systemic precursor dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS); the first step in the metabolic pathway from DHEAS to DHT is the desulfatation of DHEAS by the enzyme steroid sulfatase to produce DHEA. The presence of the enzyme in keratinocytes and in skin-derived fibroblasts has been described. The potential use of steroid sulfatase inhibitors for the reduction of endogenous levels of steroid hormones in the skin was confirmed using known steroid sulfatase inhibitors, such as estrone 3-O-sulfamate and 4-methylumbelliferyl-7-O-sulfamate. We found that inhibitors of placental steroid sulfatase are also inhibitors of the enzyme prepared from either a human keratinocyte (HaCaT) or a human skin-derived fibroblast cell line (1BR3GN). The inhibitors were also shown to block steroid sulfatase in intact monolayers of the HaCaT keratinocytes.

Therefore, inhibitors of steroid sulfatase can be used to reduce androgen and estrogen levels in the skin. They can be used as inhibitors of the enzyme steroid sulfatase for the local treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit (such as acne,

seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism) and for the local treatment of squamous cell carcinoma.

Furthermore non-steroidal steroid sulfatase inhibitors and their use for the treatment of disorders in which the steroid products of the sulfatase cleavage play a role. Indications for these new inhibitors include androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit (such as acne, seborrhea, androgenetic alopecia, hirsutism); estrogen- or androgen-dependent tumors, such as squamous cell carcinoma and neoplasms of, e.g., the breast, endometrium, and prostate; for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, type I and II diabetes, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis, myasthenia gravis, thyroiditis, vasculitis, ulcerative colitis, and Crohn's disease, psoriasis, contact dermatitis, graft versus host disease, eczema, asthma and organ rejection following transplantation.

Steroid sulfatase inhibitors are also useful for the treatment of cancer, especially for the treatment of estrogen- and androgen-dependent cancers, such as cancer of the breast and endometrium and squamous cell carcinoma, and cancer of the prostate.

Steroid sulfatase inhibitors are also useful for the enhancement of cognitive function, especially in the treatment of senile dementia, including Alzheimer's disease, by increasing the DHEAS levels in the central nervous system.

These activities can be shown in the following test systems:

Purification of human steroid sulfatase.

Human placenta was obtained fresh after delivery and stripped of membranes and connective tissues. For storage, the material was frozen at -70°C. After thawing, all further steps were carried out at 4°C, while pH values were adjusted at 20°C. 400 g of the tissue were homogenized in 1.2 L of buffer A (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.25 M sucrose). The homogenate was centrifuged at 10,000xg for 45 minutes. The supernatant was set aside and the pellet was re-homogenized in 500 mL buffer A. After centrifugation, the two supernatants were combined and subjected to ultracentrifugation (100,000xg, 1 hour). The pellet was resuspended in buffer A and the centrifugation was repeated. The pellet was suspended in 50 mL 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, and stored at -20°C until further work-up.

After thawing, microsomes were collected by ultracentrifugation (as above) and suspended in 50 mL buffer B (10 mM Tris-HCl, pH 7.0, 1 mM EDTA, 2 mM 2-mercaptoethanol, 1 % Triton X-100, 0.1 % aprotinin). After 1 hour on ice with gentle agitation, the suspension was

129
123

centrifuged (100,000xg, 1 hour). The supernatant containing the enzyme activity was collected and the pH was adjusted to 8.0 with 1 M Tris.

Then the solution was applied to a hydroxy apatite column (2.6x20 cm), equilibrated with buffer B, pH 8.0. The column was washed with buffer B at a flow rate of 2 ml/min. The activity was recovered in the flow-through. The pool was adjusted to pH 7.4 and subjected to chromatography on a concanavalin A sepharose column (1.6x10 cm) equilibrated in buffer C (20 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.1 % Triton X-100, 0.5 M NaCl). The column was washed with buffer C, and then the bound protein was eluted with 10 % methyl mannoside in buffer C. Active fractions were pooled and dialysed against buffer D (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, 0.1 % Triton X-100, 10 % glycerol (v/v)).

The retentate was applied to a blue sepharose column (0.8x10 cm) equilibrated with buffer D; the column was washed and then eluted with a linear gradient of buffer D to 2 M NaCl in buffer D. Active fractions were pooled, concentrated as required (Centricon 10), dialysed against buffer D and stored in aliquots at -20°C.

Assay of human steroid sulfatase.

It is known that purified human steroid sulfatase not only is capable to cleave steroid sulfates, but also readily cleaves aryl sulfates such p-nitrocatechol sulfate which was used here. Assay mixtures were prepared by consecutively dispensing the following solutions into the wells of flat-bottom microtiter plates:

- 1) 50 µl inhibitor dilution in buffer (= 0.1 M Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 % Triton X-100);
- 2) 50 µl substrate (= 20 mM p-nitrocatechol sulfate in buffer)
- 3) 50 µl enzyme dilution to give a final concentration of 75 nM steroid sulfatase.

Plates were incubated at 37°C for 30 minutes. Then the assay was stopped by addition of 100 µl 1 N NaOH, and optical density was measured in a microplate reader at 492 nm. Compounds were added from stock solutions in ethanol; the final ethanol concentration did not exceed 0.1 %. IC₅₀ values were calculated by nonlinear regression of the concentration/optical density data using the program Grafit (Erithacus Ltd.). Reported values are the mean of three determinations.

Calculation of relative IC₅₀ values.

From the fluorescence intensity data (I) obtained at different concentrations (c) of the test compound in the assay described above, the concentration inhibiting the enzymatic activity by 50 % (IC₅₀) was calculated using the relation

$$I = \frac{I_{100}}{1 + (c / IC_{50})^s}$$

where I_{100} is the intensity observed in the absence of inhibitor and s is a slope factor. Estrone sulfamate served as a reference compound and its IC_{50} value was determined in parallel to all other test compounds. Relative IC_{50} values were defined as follows:

$$\text{rel } IC_{50} = \frac{IC_{50} \text{ of test compound}}{IC_{50} \text{ of estrone sulfamate}}$$

Estrone sulfamate showed an IC_{50} value of approximately 60 nM. The compounds of the invention inhibit steroid sulfatase with rel IC_{50} in the range of 0.006 to 30.

Steroid sulfatase activity in cell extracts.

HaCaT keratinocytes or 1BR3GN fibroblasts were grown to confluency using standard cell culture techniques. Cells were harvested by trypsinization, washed once with PBS and suspended in 20 mM Tris-HCl, pH 8.0. The suspension was sonicated and then centrifuged at 12,000xg for 30 minutes. The supernatant was subjected to ultracentrifugation at 100,000xg for 60 minutes. The resulting microsomal pellet was resuspended in buffer containing 0.1 % Triton X-100 and left standing for 30 minutes. After additional centrifugation at 100,000xg for 30 minutes the supernatant which contains the solubilized enzyme was removed and stored at 4°C.

For assay of the enzymatic activity, 10 µl enzyme solution were added to 100 µl 50 µM dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) containing approximately 60,000 dpm [³H]DHEAS (21 Ci/mmol) in 0.1 M Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 % Triton X-100. Test compounds were included at various concentrations; they were added from stock solutions in DMSO. After incubation for 30 minutes at 37 °C, 250 µl of 1 N NaOH were added. The mixture was extracted with 1 ml toluene. 800 µl of the organic layer were subjected to liquid scintillation counting to determine the fraction of substrate that was cleaved to dehydroepiandrosterone (DHEA). IC_{50} values were calculated in analogy to the method described above.

Estrone sulfamate was found to inhibit the steroid sulfatase with IC_{50} in the range of 1 - 5 nM, depending on the enzyme concentration used.

156
124**Incubation of HaCaT keratinocytes with DHEAS.**

HaCaT cells were cultivated in Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10 % fetal calf serum (FCS). They were grown to confluency and then harvested by trypsinization. Approximately, $2 \cdot 10^6$ cells were dispensed into 9.6 cm² dishes and incubated in medium containing FCS until confluency was reached. Then the medium was changed to serum-free DMEM (1.5 ml per well); DHEAS was included as substrate at a concentration of 0.3 μ M with 1.5 μ Ci/well [³H]DHEAS (21 Ci/mmol) as tracer. Incubation was continued for 96 hours. Test compounds were added from stock solutions in ethanol; the final ethanol concentration in the assay did not exceed 1 %. In parallel, DHEAS was also incubated with medium without cells as a control for non-enzymatic hydrolysis. After incubation, the supernatant was removed and 1 ml was extracted with 4 ml toluene. 3 ml of the organic layer were collected and the solvent evaporated in vacuo. The residue was taken up in acetonitrile. 10 μ g DHEA were included as carrier. The extract was analysed by HPLC using a RP C-8 column and isocratic elution with 10 mM ammonium sulfate, pH 6 / acetonitrile 60:40 at a flow rate of 1 ml/min. The amount of DHEA cleaved during incubations was calculated from the area of the corresponding radioactive peak, determined by continuous monitoring with a radiodetector equipped with a flow-cell. From the data obtained at various concentrations of the test compounds, IC₅₀ and rel IC₅₀ values were calculated as described above for the assay using purified enzyme. The IC₅₀ value for estrone sulfamate was approximately 0.1 nM. The compounds of the invention showed rel IC₅₀ values in the range of 0.1 to 100.

The compounds of the invention are therefore indicated for use as steroid sulfatase inhibitors, in the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhea, androgenetic alopecia, hirsutism and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease.

For this use the dosage to be used will vary, of course, depending e.g. on the particular compound employed, the mode of administration and the treatment desired. However, in general, satisfactory results are obtained when the compounds are administered at a daily dosage of from about 0.1 mg/kg to about 100 mg/kg animal body weight, suitably given in divided doses two to four times daily. For most large mammals the total daily dosage is from about 5 mg to about 5000 mg, conveniently administered, for example, in divided doses up to four times a day or in retard form. Unit dosage forms comprise, for example, from about

1.25 mg to about 2000 mg of the compounds in admixture with at least one solid or liquid pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

The compounds of the invention may be administered in similar manner to known standards for use in such indications. The compounds may be admixed with conventional chemotherapeutically acceptable carriers and diluents and, optionally, further excipients, and administered e.g. orally in such forms as tablets and capsules.

Alternatively, the compounds may be administered topically in such conventional forms as ointments or creams, parenterally or intravenously. The concentrations of the active substance will, of course vary depending e.g. on the compound employed, the treatment desired and the nature of the form. In general, however, satisfactory results are obtained, e.g. in topical application forms at concentrations of from about 0.05 to about 5 %, particularly from about 0.1 about 1 % by weight.

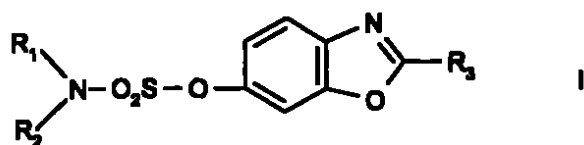
Pharmaceutical compositions comprising a compound of the invention together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent also form part of the invention, as well as a process for the preparation thereof by mixing together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent. The invention also comprises the compounds of the invention for use as pharmaceuticals, especially in the prevention or treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease.

The invention further comprises a method of prevention or treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, such as acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, and for treatment of cancer, especially of estrogen and androgen-dependent cancers and of senile dementia including Alzheimer's disease, which comprises administering a therapeutically effective amount of a compound of the invention to a subject in need of such treatment.

3/25

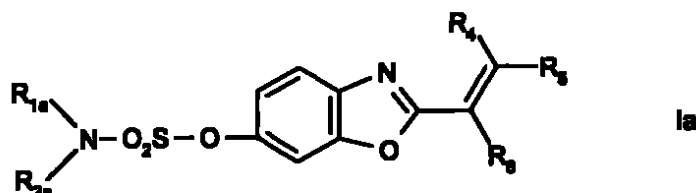
Claims:

1. Organic compounds of formula



wherein R_1 and R_2 are the same or different and represent hydrogen, acyl, alkoxycarbonyl or alkyl, R_3 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, adamantylalkyl, adamantylalkenyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, hexahydro-2,5-methano-pentalen-3a-yl, 7-isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydrophenanthren-1-yl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form.

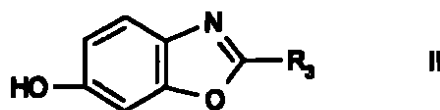
2. Organic compounds of formula



wherein R_{1a} and R_{2a} are the same or different and represent hydrogen or alkyl, R_4 , R_5 and R_6 are the same or different and represent hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form.

3. Processes for the preparation of compounds of formula I as defined in claim 1, comprising

a) sulfamoylation of compounds of formula



wherein R_3 is as defined in claim 1, according to known methods, or

b) for the preparation of compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is alkyl, acyl or alkoxy carbonyl, N-alkylating or N-acylating compounds of formula I, wherein at least one of the substituents R_1 and R_2 is hydrogen,

and recovering thus obtained compounds of formula I in free form or, where such forms exist, in salt form.

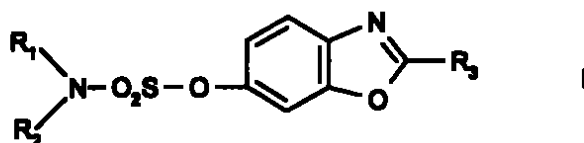
4. Use of non steroidal steroid sulfatase inhibitors for the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit.
5. Use of non steroidal steroid sulfatase inhibitors for the treatment of acne, seborrhoea, androgenetic alopecia and hirsutism.
6. A pharmaceutical composition comprising a compound of formula I as defined in claim 1 in free form or pharmaceutically acceptable salt form together with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
7. A process for the preparation of a pharmaceutical composition according to claim 6 which comprises mixing a compound of formula I with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
8. A compound according to claim 1 for use as a pharmaceutical.
9. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of disorders, in which the steroid products of the sulfatase cleavage play a role.
10. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous unit, of estrogen- or androgen-dependent tumors, of inflammatory diseases, of autoimmune diseases and of dementia.

32
10

11. Use of a compound according to claim 1 for the treatment of acne, seborrhoea, androgenetic alopecia, hirsutism, squamous cell carcinoma and neoplasms of the breast, endometrium and prostate.
12. A method of treatment comprising administering a therapeutically effective amount of a compound of formula I as defined in claim 1 in free form or pharmaceutically acceptable salt form to a subject in need of such treatment.

Abstract:

The invention concerns organic compounds of formula



wherein R_1 and R_2 are the same or different and represent hydrogen, acyl, alkoxycarbonyl or alkyl, R_3 represents alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, arylalkyl, arylalkenyl, arylalkynyl, adamantylalkyl, adamantylalkenyl, acyl, cycloalkylalkyl, camphanyl, adamantyl, bicyclo[2.2.1]hept-2-ylmethyl, nor-adamantyl, 2,2-diphenyl-ethyl, 2,2,2-triphenyl-ethyl, dicyclohexylmethyl, hexahydro-2,5-methano-pentalen-3a-yl, 7-isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydrophenanthren-1-yl, heteroaryl and heteroarylalkyl, whereby aryl, cycloalkyl and heteroaryl are optionally substituted by alkyl, alkoxy or halogen, in free form and, where such forms exist, in salt form, processes for production thereof and their use as pharmaceuticals.

2000-03-27 SR/rb

winword/enmeld/nfi/prio/900/9941A.doc

2324
127

(Emblema)

(Logotipo)

INVERSIONISTA EN LA GENTE

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
Gales del Sur
NP10 8QQ

Yo, el suscrito, siendo un funcionario debidamente autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) de la Ley de Desregulación y Contratación Externa de 1994, para firmar y expedir certificados a nombre del Contralor General, mediante la presente certifico que el anexo es una copia fiel de los documentos tal como se presentaron originalmente en relación con la Solicitud de Patente identificada en los mismos.

De acuerdo con las Reglas de Patentes (Re-registro de Sociedades) de 1982, si una sociedad nombrada en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se ha re-registrado, de acuerdo con la Ley de Sociedades de 1980, con el mismo nombre que aquél con el que se registró inmediatamente antes del re-registro, salvo por la sustitución como, o la inclusión como, la última parte del nombre con las palabras "sociedad pública limitada" o sus equivalentes en Galo, las

135
120

referencias al nombre de la sociedad en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se tratarán como referencias al nombre con el cual así se re-registró.

De acuerdo con las reglas, las palabras "sociedad pública limitada" pueden ser reemplazadas por s.p.l., spl, S.P.L., ó SPL.

El re-registro según la Ley de Sociedades no constituye una nueva entidad legal, sino que meramente sujeta a la sociedad a ciertas reglas adicionales de la ley de sociedades.

Firma: (Firmado)

Fecha: 10 de octubre de 2000.

Una Agencia Ejecutiva del Departamento
de Comercio e Industria
(Aparece un sello móvil de la Oficina de Patentes).

126
129
1/77

29MAR00 E525267-1 D00524

P01/7700 0.00 - 0007511.9

Ley de Patentes de 1977

(Regla 16)

(Aparece un sello ovalado impreso con la siguiente leyenda:

LA OFICINA DE PATENTES

29 DE MARZO DE 2000

RECIBIDO PERSONALMENTE) .

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes

Cardiff Road

Newport

Gwent NP9 1RH

SOLICITUD PARA LA CONCESION DE UNA PATENTE

(Ver las notas al reverso de esta forma. También puede obtener un folleto de explicaciones en la Oficina de Patentes, para ayudarle a llenar esta forma).

1. Su referencia: 4-31200P2 NFI 9941/A

2. Número de Solicitud de Patente:

(La Oficina de Patentes llenará esta parte)

0007511.9

157
130

3. Nombre completo, domicilio, y código postal de cada solicitante (*subraye todos los apellidos*):

NOVARTIS AG

SCHWARZWALDALLEE 215

4058 BASILEA

SUIZA

Número ADP de Patentes (*si lo conoce*):

7125487002

Si el solicitante es un cuerpo corporativo, dé el país/estado de su incorporación:

SUIZA

4. Título de la invención:

Compuestos Orgánicos

5. Nombre de su agente (*si tiene alguno*):

B. A. YORKE & CO.

AGENTES DE PATENTES AUTORIZADOS

"Dirección para notificaciones" en el Reino Unido, a donde se debe enviar toda la correspondencia (*incluyendo el código postal*):

COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD

ISLEWORTH

MIDDLESEX TW7 6NH

138
(31)

Número ADP de Patentes (si lo conoce):

1800001

6. Si está declarando prioridad a partir de una o más solicitudes de patente anteriores, dé el país y la fecha de presentación de cada una de estas solicitudes anteriores, y (si lo conoce) cada número de solicitud:

País: - - -

Número de solicitud de prioridad (si lo sabe): - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de otra manera de una solicitud anterior del Reino Unido, dé el número y la fecha de presentación de la solicitud anterior:

Número de solicitud anterior: - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

8. ¿Es una declaración de invención y del derecho de otorgar una patente requerida en apoyo de esta solicitud? (Conteste "Sí" en el caso de que:

- a) cualquier solicitante nombrado en la parte 3 no sea un inventor, ó
- b) haya un inventor que no esté nombrado como un solicitante, ó

139
132

c) cualquier solicitante nombrado sea un cuerpo corporativo.

Ver la nota (d)): **sí**

9. Anote el número de páginas para cualquiera de los siguientes artículos que esté presentando con esta forma. No cuente las copias del mismo documento.

Páginas de continuación de esta forma	--
Descripción	14
Reivindicaciones	3
Resumen	1
Dibujo(s)	--

10. Si también está presentando cualquiera de los siguientes, informe cuántas en cada uno de los puntos.

Documentos de prioridad:	--
Traducción de documentos de prioridad:	--
Declaración de invención y derecho a la concesión de una patente (Forma de Patentes 7/77):	--
Solicitud de examen preliminar y búsqueda (Forma de Patentes 9/77):	--
Solicitud de examen sustantivo (Forma de Patentes 10/77):	--
Cualesquiera otros documentos (por favor especifique):	--

40
33

11. Solicitamos la concesión de una patente con base en esta solicitud.

Firma: B. A. Yorke & Co.

(Firmado)

Fecha: 28.03.00

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para hacer contacto en el Reino Unido:

SRA. E. CHEETHAM

0181 560 5847

Advertencia

Después de que se haya presentado una solicitud de patente, el Contralor de la Oficina de Patentes considerará si se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de la invención, de acuerdo con la Sección 22 de la Ley de Patentes de 1977. Se le informará si es necesario prohibir o restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive en el Reino Unido, la Sección 23 de la Ley de Patentes de 1977 le impide solicitar una patente en el extranjero sin obtener primero un permiso por escrito de la Oficina de Patentes, a menos que se haya presentado una solicitud cuando menos 6 semanas antes en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y no se hayan dado instrucciones que prohíban la publicación o la comunicación, o se hayan revocado dichas instrucciones.

Notas

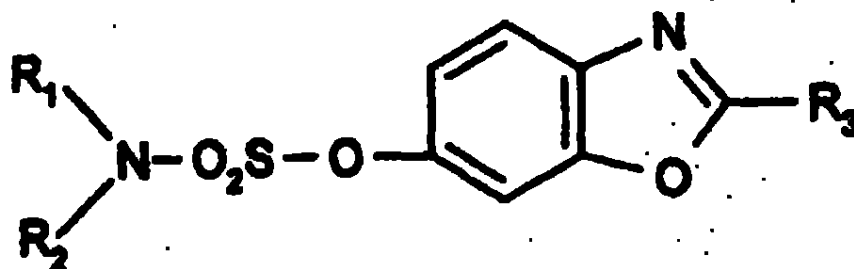
141
134

- a) Si necesita ayuda para llenar esta forma, o tiene alguna pregunta, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes al 0645 500505.
- b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas, utilizando tinta negra, o puede mecanografiarlas.
- c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles pertinentes en cualquier parte de esta forma, por favor continúe en una hoja de papel separada, y escriba "ver página de continuación" en las partes pertinentes. Cualquier página de continuación se debe adjuntar a esta forma.
- d) Una vez que haya llenado la forma, debe recordar firmarla y fecharla.
- e) Para los detalles de los derechos y de las maneras de pagar, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes.

Compuestos Orgánicos

La invención concierne a esteroides inhibidores de sulfatasa no esteroideles novedosos y sus usos para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por niveles de esteroides activos hormonales incrementados.

De una manera más particular, concierne a compuestos orgánicos de la fórmula I:



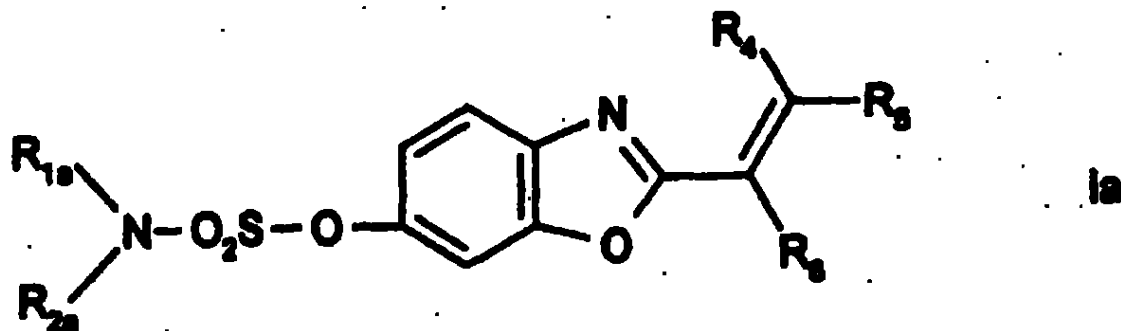
en donde:

R_1 y R_2 son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcoxycarbonilo; R_3 representa alquilo; alquenilo; alquinilo; adamantilalquilo, adamantilalquenilo, acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicicloheximetilo, hexahidro-2,5-metano-pentalen-3a-ilo, 7-isopropil-1,4a-dimetil-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5, 6, 10, 10a-decanhidrofenantren-1-ilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma li-

bre y, cuando existan estas formas, en forma de sal, en adelante brevemente llamados "compuestos de la invención", procesos para producirlos y sus usos como productos farmacéuticos.

Alquilo tal como parte de un sustituyente es de 1 a 4 átomos de carbono, y en particular es metilo, etilo o terbutilo. Acilo de preferencia es el residuo de un ácido carboxílico, en particular un ácido carboxílico de alquilo, aralquilo, o arilo, por ejemplo un ácido carboxílico de alquilo, aralquilo, o arilo. Arilo de preferencia representa fenilo, o tililo. Cicloalquilo represente de preferencia ciclopropilo, ciclohexilo, o ciclopentilo. Heteroarilo representa de preferencia piridilo o tienilo

Un subgrupo adicional de compuestos de la invención, es el de los compuestos de la fórmula Ia:

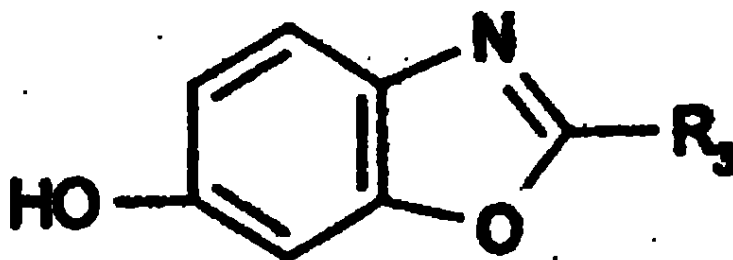


en donde R_{1a} y R_{2a} son iguales o diferentes y representan hidrógeno o alquilo, R_4 , R_5 y R_6 son iguales o diferentes y representan hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilalquilo arilalquenilo, arilalquinilo, acilo, cicloalquilalquilo, camfenilo adamantilol, biciclo[2.2.1]hept-2-

ilmetilo, noradmantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicitclohexilmetilo, heteroarilo, y heteroalquilalquilo, por lo cual, arilo, cicloalquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoxilo, o halógeno, en forma libre y, donde existan estas formas, en forma de sal, en adelante brevemente llamados "compuestos de la invención", procesos para la preparación de los mismos y sus usos como productos farmacéuticos.

La invención incluye además un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula I la cual comprende:

- a) sulfamoilar un compuesto de la fórmula:



en donde R₃ es como se definió anteriormente, de acuerdo con los métodos conocidos, ó

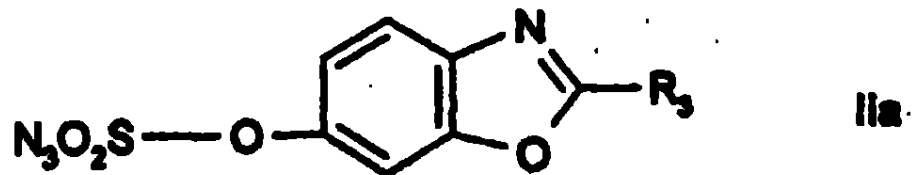
- b) para la preparación de compuestos de la fórmula I, en donde cuando menos uno de los sustituyentes R₁ y R₂ son alquilo, acilo o alcoxycarbonilo, N-alquilación o N-acilación de los compuestos de la fórmula I en donde cuando menos uno de los sustituyentes R₁ y R₂ es hidrógeno, y recobrando los compuestos así obtenidos de la fórmula I en

145
130

forma libre, o cuando estas formas existan, en forma de sales.

El proceso a) se realiza utilizando procesos estándares para sulfomoiación, por ejemplo:

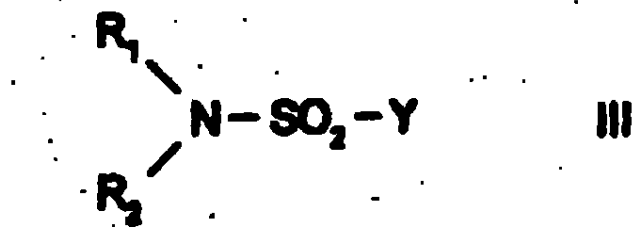
α) hacer reaccionar un material de partida fenolico de la fórmula II con cloruro sulfurilo y azida de sodio o potacio para generar compuestos de las fórmula:



en donde R_3 es como se define anteriormente, que da dispuestos de la reducción del grupo azido compuestos de la fórmula I, en donde R_1 y R_2 representan hidrógeno, o

β) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II con ClSO_2NCO , seguido por hidrólisis acuosa para producir compuestos de la fórmula I, en donde R_1 y R_2 representan hidrógeno, o

γ) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II con un compuesto de la fórmula:



en donde R_1 y R_2 son como se definieron anteriormente, e Y es un grupo saliente, por ejemplo halógeno, de preferencia cloro; en un solvente inerte, por ejemplo dimetilformamida o dime-

115
39

tilacetamida, con o sin la adición de una base orgánica, tal como una amina terciaria orgánica, o un base inorgánica, por ejemplo un carbonato alcalino (de hidrógeno) o un hidruro alcalino, de preferencia hidruro de sodio.

El proceso b) se efectúa mediante N-alquilación, y N-acilación, utilizando, sulfatos o mesilatos, de preferencia alquilioidas o haluros de acilo; haluros de alcóxicarbonilo, de preferencia cloruros, en la presencia de una base adecuada, de preferencia un carbonato de metal alcalino o un hidruro de metal alcalino, en un solvente inerte, de preferencia un solvente polar, tal como acetona o dimetilformamida, a temperaturas entre aproximadamente -20°C y aproximadamente $+120^{\circ}\text{C}$, de preferencia entre la temperatura ambiente y 60°C .

Los materiales de partida y compuestos intermediarios son ambos conocidos y se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos o análogamente como se describe en los ejemplos.

Los siguientes ejemplos, que ilustran la invención pero no la limitan de ninguna forma, las referencias de temperaturas están en grados Celsius.

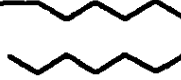
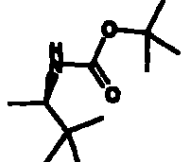
Ejemplo 1: 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-iléster del ácido sulfámico (proceso a)

Se agregan 74 miligramos de 2,6-diterbutil-4-metilpiridina y 83 miligramos de cloruro de amidosulfonilo a una solución de 50 miligramos de 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol en 5

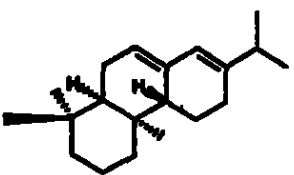
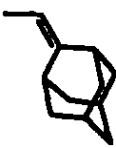
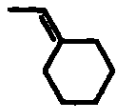
140

mililitros de una mezcla de diclorometano y dimetilformamida, y la mezcla obtenida se agita temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas. El solvente se evapora, y el residuo obtenido se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo = 2/1). En el curso de evaporación ocurre la cristalización del solvente. p.f. = 147-150°.

De una manera análoga como se describe en el ejemplo 1 los siguientes compuestos de la invención se pueden preparar ($R_1 = R_2 = H$):

Ejemplo	R_3	p.f.
2		140-143°
3		97-100°
4		99-101°
5	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	145-148°
6	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	160-180°
7	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_{11})_2$	66-72°
8		asíate
9		164-166°

K8
141

10		92-99°
11		172-174°
12		68-73°
13		149-152°

Ejemplo 8: $^1\text{H-NRM}$ (CDCl_3): 7.54 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 2.2 + 8.7$ Hz, 1H), 5.92 (bs, 2H), 5.72 (bd, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (s, 9H).

Los fenoles utilizados como materiales de partida y los intermediarios se pueden obtener como sigue:

A) 2-(adamantan-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol (fórmula II)

A una mezcla de 424 miligramos de 2-(adamantan-1-il)-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida (fórmula VII), y 1.18 gramos de trifenilfosfano en 15 mililitros de tetrahidrofurano seco, se agregan por goteo 0.7 mililitros de azodicarboxilato de dietilo (DEAD). La mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente, el solvente se evapora, y el residuo se purifica me-

diante cromatografía de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo = 3/1 → 2/1), produciendo un 2-(adamanta-1-ilmetil)benzoxazol-6-ol. p.f. 247-251°.

De una manera análoga a la descrita anteriormente, y utilizando los materiales de partida apropiados, se preparan los siguientes compuestos de la fórmula II:

- 2-(2,2-dimetilpropil)benzoxazol-6-ol (p.f. 176-184°C);
- 2-(adamantan-1-il)benzoxazol-6-ol (p.f. 260-265°C);
- 2-tridecil-benzoxazol-6-ol (p.f. 72-73°C);
- 2-(2,2-difeniletil)benzoxazol-6-ol (p.f. 182-206°C);
- 2-(2,2,2-trifeniletil)benzoxazol-6-ol (p.f. 150-155°C);
- 2-diciclohexilmetil-benzoxazol-6-ol (p.f. 196-204°C);
- terbutiléter del ácido [1-(6-hidroxi-benzoxazol-2-il)-2,2-dimetilpropil]carbámico (p.f. 131-160°C);
- 2-(hexahidro-2,5-metano-pentalen-3a-il)benzoxazol-6-ol (p.f. 241-243°C);
- 2-(7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahidrofenantren-1-il)-benzoxazol-6-ol (p.f. 90-95°C);
- 2-(ciclohexilidenmetil)benzoxazol-6-ol (p.f. 158-162°C);

B) 2-terbutil-benzoxazol-6-ol

Una mezcla de 1.01 mililitros de cloruro de pivaloilo, 808 miligramos de 2,4-dihidroxianilina.clorohidrato y 0.4 mililitros de piridina se calientan a 210° por 18 horas. Luego la

mezcla de reacción se dispersa en ciclohexano/acetato de etilo (2/1) y se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice con el mismo solvente proporcionando 2-adamantan-1-ilmetil-benzoxazol-6-ol puro p.f. = 204-210°

C) 2-(adamantan-2-ilidenometil)benzoxazol-6-ol

6.6 gramos de 2-metil-benzoxazol-6-ol se disuelven en 100 mililitros de tetrahidrofurano seco, se enfría a 0° y se agregan la base de Huning y cloruro de trimetilsililo. Luego el baño de hielo se remueve y se continua la agitación durante 2 horas. Para la deprotonación la mezcla de reacción se enfría a -78° y se agrega una solución NaHMDS dentro de 20 minutos. Después de una hora adicional, se agrega el sólido 2-adamantanona y se mantiene a -78° durante otra hora. Luego la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente, se vierte en 300 mililitros de solución NaHSO₄ de 1M y se extrae con 700 mililitros de acetato de etilo. La capa orgánica se lava una vez con solución NaHSO₄ de 1M, dos veces con salmuera y se seca sobre sulfato de sodio. El solvente se evapora y el residuo obtenido se vuelve a disolver en 240 mililitros de tolueno y 3.1 mililitros de ácido trifluoroacético mediante calentamiento de la mezcla de reacción a 115° durante 7 horas. El enfriamiento a temperatura ambiente se acompaña por cristalización. La filtración da el trifluoroacetato del compuesto del título. La recristalización a partir de etanol da 2-

157
144

(adamantan-2-ilidenemetil)benzoxazol-6-ol.

De una manera análoga, como se describió anteriormente, se puede preparar el siguiente compuesto:

2-ciclohexilidenemetil-benzoxazol-6-ol

Las anilidas utilizadas como materiales de partida en A) se pueden preparar de la siguiente manera:

a) 2(adamantan-1-il)-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida

Se agrega 1.05 mililitros de una base de Huning a una solución de 323 miligramos de clorhidrato de 2,4-dihidroxianilina, 388 miligramos del ácido (adamantan-1-il)acético, y 1.2 mililitros de anhídrido propilfosfónico (al 50 por ciento en acetato de etilo) en 20 mililitros de diclorometano seco a 0°C. La mezcla obtenida se agita durante aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, luego se evapora el solvente y el residuo se disuelve en 50 mililitros de acetato de etilo, y se extrae con ácido clorhídrico acuoso 1M, una solución acuosa saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio, y el solvente se evapora para obtener una 2-adamantan-1-il-N-(2,4-dihidrofénil)-acetamida p.f. = 195-197°.

De una manera análoga como se describió anteriormente, se pueden preparar los siguientes compuestos:

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3-dimetil-butiramida: ¹H-NMR (CDCl₃): 7.41 (s, 1H), 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 2.7 + 8.5 Hz, 1H), 2.29 (s, 2H),

145

1.10 (s, 9H).

Acido adamantana-1-carboxilico (2,4-hidroxi-fenil)amida:
p.f. = 108-110°

Acido tetradecanóico (2,4-hidroxi-fenil)amida: p.f. = 110-112°

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3-difenil-propionamida: p.f. = 206-208°

N-(2,4-dihidroxi-fenil)-3,3,3-trifenil-propilamida: p.f. = 234-235°

2,2-diciclohexil-N-(2,4-dihidroxi-fenil)acetamida: p.f. = 179-181°

Ester de terbutilo de acido [1-(2,4-dihidroxi-fenilcarbamoilo)-2,2-dimetil-propil]carbamico: p.f. = 89-91°

Acido hexahidro-2,5-metano-pentaleno-3 α -carboxílico (2,4-dihidroxi-fenil)amida: p.f. = 204-206°

Acido 7-isopropil-1,4 α -dimetil-1,2,3,4,4 α ,5,6,10,10 α -decahidro-fenantren-1-carboxílico (2,4-hidroxi-fenil)amida:
p.f. = 200-207°

b) 2-adamantan-2-iliden-N-(2,4-dihidroxifenil)acetamida

3.0 gramos del ácido adamantan-2-ilidenacético, 5.91 gramos de trifenilfosfano, y 4.95 gramos de disulfuro de dipiridilo, disueltos en 100 mililitros de diclorometano, se agitan a temperatura ambiente durante la noche. Se le agrega 5.13 mililitros de base de Huning, y 4.83 gramos de clorhidrato de 2,4-dihidroxianilina, y la mezcla se agita durante aproximadamente

24 horas, se evapora el solvente, se disuelve el residuo en acetato de etilo, y se extrae con una solución acuosa saturada de NaH_2PO_4 , y se salmuera. La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora el solvente. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía con ciclohexano/acetato de etilo (2/1) produciendo 2-adamnta-2-ilideno-N-(2,4-dihidroxifenil)acetamida p.f. 166-169°.

De una manera analoga como se describió anteriormente, se puede preparar el siguiente compuesto:

2-ciclohexilideno-N-(2,4-dihidroxifenil)acetamida: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.27 (dd, $J = 2.7 + 8.6$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 2.82 (bm, 2H), 2.16 (bm, 2H), 1.60 (s, 6H).

Las hormonas esteroidales, en particular los tejidos, están asociadas con varias enfermedades, tales como tumores del pecho, del endometrio, y de la próstata, y desórdenes de la unidad pilosebacea, por ejemplo, acne, alopecia androgenética, y hirsutismo. Los precursores importantes para la producción local de estas hormonas de esteroides, son los 3-O-sulfatos de esteroides, que se desulfatan mediante la enzima sulfatasa de esteroide en los tejidos blanco. La inhibición de esta enzima da como resultado niveles locales reducidos terapéuticamente relevantes de las hormonas esteroidales activas correspondientes. Además, los inhibidores de sulfatasa de esteroide también pueden ser útiles como inmunosupresores, y pueden mejorar la

memoria cuando se suministran al cerebro. Son novedosas las funciones de los inhibidores de sulfatasa de esteroide en el tratamiento de acne y otros desórdenes de la piel dependientes de andrógeno, como propósito de la actual invención.

El acne es una enfermedad polietiológica causada por la interacción de numerosos factores, tales como herencia, suero, hormonas y bacterias. El factor causador más importante en acne es la producción de suero; en la mayoría de los casos todos los pacientes de acne la glándula sebacea es mayor y produce más suero que en personas con piel saludable. El desarrollo de la glándula sebacea y la ampliación de la producción de suero se controla hormonalmente, mediante andrógenos; por consiguiente, los andrógenos juegan un papel crucial en la patogénesis del acne. En el hombre, hay dos fuentes mayores que proveen andrógenos al tejido blanco: (i) las gónadas que secretan testosterona, (ii) las suprarrenales que producen dehidroepiandrosterona (DHEA) que se secreta como el sulfato conjugado (DHEAS). Se convierten tanto la testosterona como DHEAS al andrógeno más activo, dihidrotestosterona (DHT), en el tejido blanco, por ejemplo, en la piel. Hay evidencia que este sendero de síntesis local de DHT en la piel son más importantes que proveer directamente con andrógenos activos para la circulación. Por consiguiente, la reducción de los niveles de endógenos de andrógenos en el tejido blanco mediante inhibidores específicos puede ser un beneficio terapéutico en acne y sebo-

148

rea. Además, abre la perspectiva para tratar estos desórdenes a través de modulación de niveles de andrógeno local mediante tratamiento tópico, mejor que niveles de hormona circulando influyendo mediante terapias sistémicas.

La alopecia masculina androgenética es muy común en las razas blancas, contando con aproximadamente el 95 por ciento de todos los tipos de alopecia. La calvicie patrón masculino es causada por un número incrementado de folículos de cabello en el cuero cabelludo introduciendo la fase de telogen perdiendo longitud. La pérdida de cabello resultante se determina genéticamente a través de andrógenos. Suero de dehidroepiandrosterona elevada, pero se han reportado niveles testosterona normal en calvicie de hombres comparados con controles sin calvicie, implicando que la producción de andrógeno del tejido blanco es importante en alopecia androgenética.

El hirsutismo es el espezador y potenciador patológico del cabello que está caracterizado por un patrón masculino del crecimiento de vabello en niños y mujeres. El hirsutismo es andrógeno inducido, tanto por formación de andrógenos incrementada, o por sensibilidad del folículo de cabello incrementada para andrógenos.

Por consiguiente, una terapia resultante en reducción de niveles de endrogénos de andógenos y/o estógenos en el tejido blanco (piel) puede ser efectivo en acné, alopecia androgenética e hirsutismo.

Dihidrotestosterona (DHT), el andrógeno más activo se sintetiza en la piel a partir del precursor sistémico abundante de sulfato dehidroepiandrosterona (DHEAS); el primer paso en la senda metabólica a partir de DHEAS a DTH es la desulfatación de (DHEAS) mediante la enzima de sulfatasa de esteroide para producir DHEA. La presencia de la enzima en ceratinocitos y en los fibroblastos derivados de la piel se han descrito. El uso potencial de inhibidores de sulfatasa de esteroide para la reducción de niveles endógenos de hormonas de esteroides en la piel se confirmó utilizando inhibidores de sulfatasa de esteroide, tales como estrona 3-O-sulfamato y 4-metilumbeliferil-7-O-sulfamato. Encontramos que inhibidores de sulfatasa de esteroide de placenta también son inhibidores de la enzima preparada a partir de queratinocita (HaCaT) humana, o una línea de célula de fibroblasto derivado de piel humana (1BR3GN). Los inhibidores también mostrarán el bloque de sulfatasa de esteroide en monocapas intactas de la queratinocita HaCaT.

Por consiguiente, los inhibidores de sulfatasa de esteroide se puede utilizar para reducir los niveles de andrógeno y estrógeno en la piel. Se pueden utilizar como inhibidores de sulfatasa de esteroide de enzima para el tratamiento local de desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad pilosebacea (tal como acne, seborea, alopecia androgenética, hirsutismo) y para tratamientos locales de carcinoma de célula escamosa.

Además, los inhibidores de sulfatasa de esteroide no este-

57
150

roidal y sus usos para el tratamiento de desórdenes en los cuales los productos de esteroide de la hendidura de sulfatasa juega un papel. Las indicaciones para estos inhibidores novedosos incluye desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad de pilosebaceo (tal como acne, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo); tumores dependientes de estrógeno o andrógeno, tales que carcinomas de células escamosas y neoplasmos de, por ejemplo, el pecho, endometrio, y próstata; para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, tales como artritis reumatoide, diabetes tipo I y II, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, miasternia gravis, tiroiditis, vasculitis, colitis ulcerativa, y enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis de contacto, enfermedad de hospedero contra injerto, eczema, asma y descartamiento de órgano, seguido de transplatación.

Los inhibidores de sulfatasa de esteroide también es útil para el tratamiento de cancer, especialmente, para el tratamiento de canceres dependientes de estrógeno y andrógeno, tal como cancer del peco y endometrio y carcinoma de célula escamosas, y cancer de próstata.

Inhibidores de sulfatasa de esteroide también es útil para el mejoramiento de la función cognitiva, especialmente en el tratamiento de demencia senil, incluyendo Alzheimer, mediante increento de los niveles de DHEAS en el sistema nervioso central.

Estas actividades se pueden mostrar en el siguiente sistema de prueba.

Purificación de sulfatasa de esteroide humano.

La placenta humana se obtiene fresca después de repartir y despojar las membranas y tejido conectivo. Para almacenaje, el material se congeló -70°C . Después de derretir, todos los pasos adicionales se llevan a cabo a 4°C , mientras los valores de pH se ajustaron a 20°C . 400 g de tejido se homogenizó en un regulador A de 1.2 litros (Tris-HCL 50mM, pH 7.4, sacarosa 0.25M). El homogeneizado se centrifugó a 10,000 xg durante 45 minutos. El sobrenadante se guardó y las píldoras se rehomo- geneizaron en un regulador A de 500 mililitros. Después de la centrifugación, los dos sobrenadantes se combinaron y sujetos a ultracentrifugación (100,000 xg, 1 hora). La píldora se suspendió en 50 mililitros Tris-HCL 50 mM, pH 7.4, y almacenado a -20°C , hasta adelantarse adicionalmente. Después de deshielar, los microsomas se recolectaron mediante ultracentrifugación (como anteriormente) y suspendieron en regulador B 50 mililitros (Tris-HCL 10 mM, pH 7.0, EDTA 1m, 2-mercaptpetanol 2 mM, Triton X-100 al 1 por ciento, apoptina al 0.1 por ciento). Después de 1 hora de hielo con agitación gentil, la suspensión se centrifugó (100,000 xg, 1 hora). El sobrenadante que contiene la actividad enzimática se recolectó y el pH se ajustó a 8.0 con Tris 1 M.

154
152

Luego la solución se aplica a una columna aparita de hidróxido (2.6x20 centímetros), equilibrados con regulador B, p.H. 8.0. La columna se lavó con regulador B hasta un rango corriente de 2 mililtros/minuto. La actividad se recubrió a través de la corriente. El estanque se ajustó el pH 7.4 y se objetivizó y se sujeto para cromatografía en una sefarosa con-canavalina A (16x 10 centímetros) se equilibró en un regulador C (Tris-HCL 20, pH 7.4, Triton X-100, NaCl 0.5 M). La colmna se lavó con regulador C y luego la proteína rebota se eluye con el 10 por ciento de metil manosida en regulador C. La fracción activa se estancó y dializado contra el regulador D (Tris-CHl 20 mM, pH 8.0, EDTA 1mM, Triton X-100 al 0.1 por ciento, glice-rol al 10 por ciento (volumen/volumen)).

El retentato se aplicó a una columna de sefarosa azul (0.8x10 centímetros) equilibrada con regulador D; la columna se lavó y luego se eluyó con un gradiente lineal del regulador D al NaCl 2 M en regulador D. Las fracciones activas se estanca-ron, consentradas como se requiere (Centricon 10), diálisado contra regulador D y almacenado en alícuotas a -20°C.

Ensayo de sulfatasa de esteroide humana

Se sabe qe sulfatasa esteroide humana preferida no solo es capaz de unir sulfatos de esteroide, pero no sólo es capaz de hundir salfatos de esteroideas, pero tmabién hundir prontamen-te, sulfatos de arilo, tales como sulfatos p-nitrocatecola, se

X¹⁰⁰
(53)

utilizó en la presente. Ensayos de mezclas se prepararon mediante dispersión consecutivamente que las siguientes soluciones en los platos micronerviosos de botón llano de pozo.

1) 50 microlitros de dilución inhibidora en regulador (= Tris-HCl 0.1 M, pH de 7.5, Triton X-100 al 0.1 por ciento);

2) 50 microlitros de sustrato (= sulfato de p-nitrocatecol 20 mM en regulador);

3) 50 microlitros de dilución enzimática para dar una concentración final de sulfatasa de esteroide 75 nM.

Las placas se incuban a 37°C durante 30 minutos luego ensayo se detiene mediante la adición de 100 microlitros de NaOH 1N y se mide la densidad óptica en un lector de microplacas a 492 nanómetros. Los compuestos se agregan a partir de las soluciones de suministro en etanol; la concentración final de etanol no excede al 0.1 por ciento. Se calculan los valores IC_{50} mediante regresión no lineal de los datos de concentración/densidad óptica, utilizando el programa Grafit (Erithacus Ltd.) Los valores reportados son el resultado de tres determinaciones.

Calculo de los valores relativos IC_{50}

A partir de los datos de intensidad de fluorescencia (I) obtenidos en diferentes concentraciones (c) del compuesto de prueba, se calcula la concentración que inhibe la actividad enzimática por el 50 por ciento (IC_{50}), utilizando la ecuación:

154

$$I = \frac{I_{100}}{1 + (C/IC_{50})^n}$$

En donde I_{100} es la intensidad observada en ausencia de inhibidor, y n es el factor de inclinación.

Ese estron-3-O-sulfamato sirve como un compuesto de referencia, y su valor IC_{50} se determinó en paralelo con los compuestos de prueba. Los valores IC_{50} relativos (rel IC_{50}) se definen como sigue:

$$\text{rel } IC_{50} = \frac{IC_{50} \text{ del compuesto de prueba}}{IC_{50} \text{ de estrona-sulfato}}$$

El sulfamato de estrona mostró un valor IC_{50} de aproximadamente 60 nM. Los compuestos de la invención inhiben la sulfatasa de esteroide con una IC_{50} rel en la escala de 0.006 a 30.

Actividad de sulfatasa de esteroide en extractos celulares.

Se cultivaron queratinocitos de HaCaT o fibroblastos 1BR3GN hasta la confluencia utilizando técnicas de cultivo celular convencionales. Las células se cosecharon mediante tripsinización, se lavaron una vez con suero regulado con fosfato, y se suspendieron en Tris-HCl 20 mM, pH de 8.0. La suspensión se sonicó y luego se centrifugó a 12,000 x g durante 30 minutos. El sobrenadante se sometió a ultracentrifugación a 100,000 x g durante 60 minutos. El gránulo microsómico resultante se volvió a suspender en regulador conteniendo Triton X-100 al 0.1 por ciento, y se dejó reposando durante 30 minutos. Después de una centri-

X
S

fugación adicional a 100,000 x g durante 30 minutos, se removió el sobrenadante que contenía la enzima solubilizada, y se almacenó a 4°C

Para el ensayo de la actividad enzimática, se agregaron 10 microlitros de solución enzimática a 100 microlitros de sulfato de deshidroepiandrosterona 50 μ M (DHEAS) conteniendo aproximadamente 60,000 dpm [^{3} H]DHEAS (21 Ci/milimol) en Tris-HCl 0.1 M, pH de 7.5, Triton X-100 al 0.1 por ciento. Los compuestos de prueba se incluyeron en diferentes concentraciones; se agregaron a partir de soluciones de suministro en sulfoxido de dimetilo. Después de la incubación durante 30 minutos a 37°C, se agregaron 250 microlitros de NaOH 1 N. La mezcla se extrajo con 1 mililitro de tolueno. Se sometieron 800 microlitros de la capa orgánica a cintilación de líquidos, contando para determinar la fracción del sustrato que se disoció hasta deshidroepiandrosterona (DHEA). Los valores IC_{50} se calcularon en analogía con el método descrito anteriormente.

Se encontró que el sulfamato de estrona inhibe la sulfatasa de esteroide con una IC_{50} en la escala de 1 a 5 nM, dependiendo de la concentración de enzima utilizada.

Incubación de queratinocitos HaCaT con DHEAS.

Se cultivaron células HaCaT en modificación con Dulbecco de medio de Eagle (DMEM) complementado con suero fetal de becerro al 10 por ciento (FCS). Se cultivaron hasta la confluencia, y luego se cosecharon mediante tripsinización. Se dosificaron aproximadamente $2 \cdot 10^6$ células en platos de 9.6 centíme-

150

tros cuadrados, y se incubaron en un medio que contenía suero fetal de becerro, hasta que se alcanzó la confluencia. Luego se cambió el medio a DMEM exento de suero (1.5 mililitros por pozo); se incluyó DHEAS como un sustrato, en una concentración de 0.3 μ M con 1.5 μ Ci/pozo [^{3} H]DHEAS (21 Ci/milimol) como rastreador. La incubación se continuó durante 96 horas. Los compuestos de prueba se agregaron a partir de soluciones de suministro en etanol; la concentración de etanol final en el ensayo no excedió del 1 por ciento. En paralelo, También se incubó DHEAS con el medio sin células como un control para la hidrólisis no enzimática. Después de la incubación, se removió el sobrenadante, y se extrajo 1 mililitro con 4 mililitros de tolueno. Se recolectaron 3 mililitros de la capa orgánica, y el solvente se evaporó al vacío. El residuo se recuperó en acetonitrilo. Se incluyeron 10 microgramos de DHEA como portador. El extracto se analizó mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento utilizando una columna RP C-8 y elución isocrática con sulfato de amonio 10 mM, pH de 6/acetonitrilo 60:40, a una velocidad de flujo de 1 mililitro/minuto. La cantidad de DHEA disociada durante las incubaciones se calculó a partir del área del pico radioactivo correspondiente, determinado mediante monitoreo continuo con un radiodetector equipado con una celda de flujo. A partir de los datos obtenidos en diferentes concentraciones de los compuestos de prueba, se calcularon los valores IC_{50} e IC_{50} rel como se describió anteriormente para el ensayo utilizando enzima purificada. El valor IC_{50} para el sulfamato de estrona

164
15x

fue de aproximadamente 0.1 nM. Los compuestos de la invención mostraron valores IC_{50} rel en la escala de 0.1 a 100.

Por consiguiente, los compuestos de la invención se indican para utilizarse como inhibidores de sulfatasa de esteroide, en el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y de andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer.

Para este uso, la dosificación que se vaya a utilizar variará, por supuesto, dependiendo, por ejemplo, del compuesto particular empleado, del modo de administración, y del tratamiento deseado. Sin embargo, en general se obtienen resultados satisfactorios cuando los compuestos se administran en una dosificación diaria de aproximadamente 0.1 miligramos/kilogramo a aproximadamente 100 miligramos/kilogramo de peso del cuerpo del animal, adecuadamente dados en dosis divididas de dos a cuatro veces al día. Para la mayoría de los mamíferos superiores, la dosificación diaria total es de aproximadamente 5 miligramos a aproximadamente 5000 miligramos, convenientemente administrados, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día, o en una forma retardada. Las formas de dosificación unitaria comprenden, por ejemplo, de aproximadamente 1.25 miligramos a aproximadamente 2000 miligramos de los compuestos mezclados con cuando menos un vehículo o diluyente sólido o líquido farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención se pueden administrar de una manera similar a los estándares conocidos para utilizarse en esas indicaciones. Los compuestos se pueden mezclar con vehículos y diluyentes quimioterapéuticamente aceptables convencionales, y opcionalmente, excipientes adicionales, y se administran, por ejemplo, oralmente en formas tales como tabletas y cápsulas.

De una manera alternativa, los compuestos se pueden administrar tópicamente en formas convencionales tales como ungüentos o cremas, parenteralmente o intravenosamente. Las concentraciones de la sustancia activa, por supuesto, variará dependiendo, por ejemplo, del compuesto empleado, del tratamiento deseado, y de la naturaleza de la forma. Sin embargo, en general se obtienen resultados satisfactorios, por ejemplo, en las formas de aplicación tópica en concentraciones de aproximadamente el 0.05 a aproximadamente el 5 por ciento, particularmente de aproximadamente el 0.1 a aproximadamente el 1 por ciento.

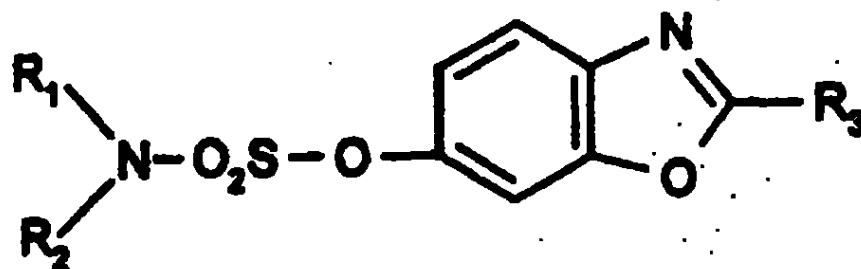
Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención, junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable también forman parte de la invención, así como un proceso para su preparación, mediante su mezcla junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La invención también comprende a los compuestos de la invención para utilizarse como productos farmacéuticos, especialmente en la prevención o en el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y

para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer.

La invención comprende además un método para la prevención o el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógenos de la unidad pilosebácea, tales como acné, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, y para el tratamiento de cáncer, especialmente de cánceres dependientes de estrógenos y andrógenos, y de demencia senil, incluyendo enfermedad de Alzheimer, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención a un sujeto que necesite dicho tratamiento.

REIVINDICACIONES

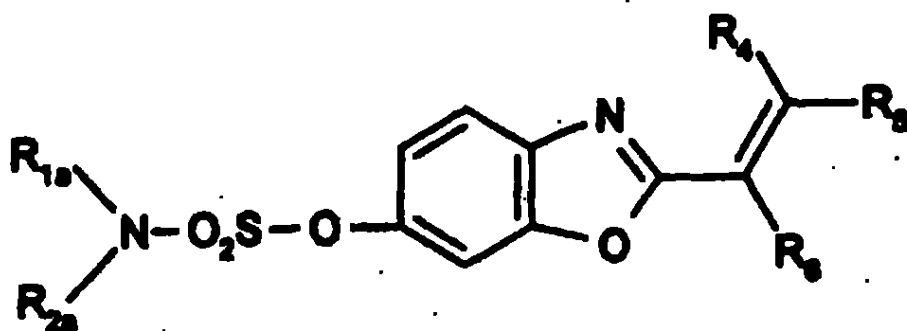
1. Compuestos orgánicos de la fórmula:



en donde:

R_1 y R_2 son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcóxicarbonilo; R_3 representa alquilo; alquénilo; alquínilo; adamantilalquilo, adamantilalquénilo, acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dícicloheximetilo, hexahidro-2,5-metano-pentalen-3a-ilo, 7-isopropil-1,4a-dimetil-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5, 6, 10, 10a-decanhidrofenantren-1-ilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma libre y, cuando existan estas formas, en forma de sal.

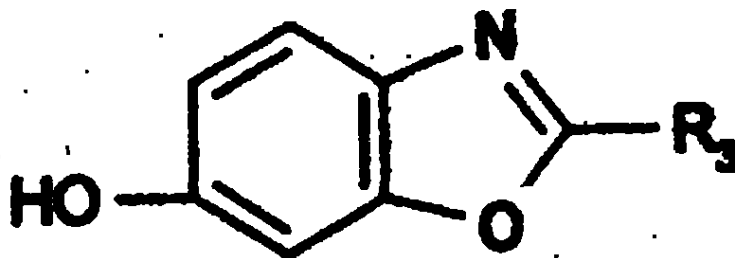
2. Compuestos de la fórmula:

168
161

en donde R_{1a} y R_{2a} son iguales o diferentes y representan hidrógeno o alquilo, R_4 , R_5 y R_6 son iguales o diferentes y representan hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilalquilo arilalquenilo, arilalquinilo, acilo, cicloalquilalquilo, camfenilo adamantilol, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradmantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, diciclohexilmetilo, heteroarilo, y heteroalquilalquilo, por lo cual, arilo, cicloalquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoxilo, o halógeno, en forma libre y, donde existan estas formas, en forma de sal.

3. Procesos para la preparación de compuestos de la fórmula I como se definieron en la reivindicación 1, comprendiendo:

a) sulfamoilar un compuesto de la fórmula:



169
162

en donde R_3 es como se definió anteriormente, de acuerdo con los métodos conocidos, ó

b) para la preparación de compuestos de la fórmula I, en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 son alquilo, acilo o alcóxicarbonilo, N-alquilación o N-acilación de los compuestos de la fórmula I en donde cuando menos uno de los sustituyentes R_1 y R_2 es hidrógeno, y recobrando los compuestos así obtenidos de la fórmula I en forma libre, o cuando estas formas existan, en forma de sales.

4. Uso de inhibidores de sulfatasa de esteroide no esteroideal para el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógeno de la unidad de pilosebaceos.

5. Uso de inhibidores de sulfatasa de esteroide no esteroideal para el tratamiento de acne, seborrea, alopecia androgénica e hirsutismo.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I como se define en la reivindicación 1, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, junto con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

7. Un proceso para la preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, el cual comprende mezclar un compuesto de la fórmula I con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para

120
163

uso como producto farmacéutico.

9. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de desórdenes, en donde los productos de esteroides de la hendidura de sulfatasa juegan un papel.

10. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de desórdenes dependientes de andrógeno, de la unidad de pilosebaceos, de tumores dependientes de estrógeno o andrógeno, de enfermedades inflamatorias, de enfermedades autoinmunes y de demencia.

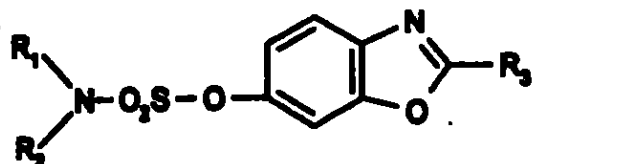
11. Uso de compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de acne, seborrea, alopecia androgenética, hirsutismo, carcinoma de células escamosas y neoplasmos del pecho, endometrio y próstata.

12. Un método para el tratamiento que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I como se describe en la reivindicación 1, en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable a partir del sujeto que necesite de este tratamiento.

164

RESUMEN

La invención conciene compuestos orgánicos de la fórmula:



en donde:

R₁ y R₂ son iguales o diferentes de hidrógeno o alquilo, acilo, alcoxicarbonilo; R₃ representa alquilo; alqueno; alquino; adamantilalquilo, adamantilalqueno, acilo, cicloalquilalquilo, camanilo, adamantilo, biciclo[2.2.1]hept-2-ilmetilo, noradamantilo, 2,2-difeniletilo, 2,2,2-trifeniletilo, dicitcloheximetilo, hexahidro-2,5-metano-pentalen-3a-ilo, 7-isopropil-1,4a-dimetil-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5, 6, 10, 10a-decanhidrofenantren-1-ilo, heteroarilo, y heteroarilalquilo, por lo cual arilo, cicloarilquilo, y heteroarilo están opcionalmente sustituidos por alquilo, alcoilo o halógeno, en forma libre y, cuando existan estas formas, en forma de sal, procesos para la producción de los mismos y sus usos como productos farmacéuticos.

2000-03-27 SR/rb

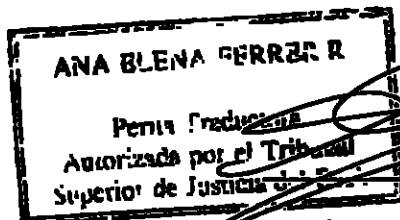
winword/anmeld/nfi/prio/900/9941A.doc

* * * * *

D2
165

Yo, ANA ELENA FERRER RAMÍREZ, Perita Traductora Autorizada por el Tribunal Superior de Justicia del D.F., y miembro de la Organización Mexicana de Traductores, A.C., con domicilio en Av. Clavería 224-205, Col. Clavería, México, D.F. 02080, Tels. 5396 2669 y 5396 5201, certifico que el documento precedente es, a mi leal saber y entender, una traducción fiel y exacta del documento original en idioma inglés que tuve a la vista.

México, D.F., 13 de noviembre de 2000.



Ana Elena Ferrer Ramírez

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 173

Radicación No 00-83908
Concepto Técnico No 1350 Clasificación Internacional de Patentes A61K31/42
//31/425//31/255

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486
se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

- SI ☒ NO ☐ Contiene un resumen de la invención (Art.26-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
- SI ☒ NO ☐ NO ES APLICABLE ☐ Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones Vigentes.(Art.26-i).
- SI ☐ NO ☒ La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J).
- SI ☒ NO ☐ La prioridad coincide con la materia reivindicada.
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS:

1. Anexa copia y traducción del capítulo reivindicatorio de la patente inglesa No.9927439.1 del 19/11/99 a partir del folio No. 69.
2. Anexa copia y traducción del capítulo reivindicatorio de la patente inglesa No. 0007511.9 del 28/03/00 a partir del folio No. 123.

EXAMINADOR TÉCNICO
202047

Bogotá D. C., Septiembre 10/ 2002 .

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

167

Folio 174

2020
Bogotá DC

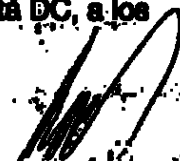
Doctor
JIMENA ESCOBAR URIBE
Apoderado

REFERENCIA:	Radicación No.	00-83906
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	418
	Oficio No.	1837
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Cumplase
Dado en Bogotá DC, a los

02 DIC. 2002


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

526

202047

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RADICACIÓN EXPEDIENTE No. 00-83906

**EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION
FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No 526, DE
FECHA 31 DE MARZO DE 2003, EL TERMINO HABIL SEÑALADO POR LA LEY
EXPIRA EL 01 DE JULIO DE 2003.**

NOTA: Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 488/2000.

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS.

SI

NO **X**

Bogotá D.C., Octubre 08 de 2003

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

RADICACIÓN: 0-83808

EDICTO No. 17380

**LA SECRETARÍA GENERAL AD-HOC
HACE SABER:**

Que esta Superintendencia profirió Resolución No. 29778 de 22-OCT-2003. Que el contenido de la parte resolutive es como sigue: El Superintendente de Industria y Comercio.

RESUELVE

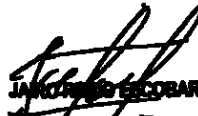
ARTICULO PRIMERO: Declarar abandonada la solicitud de privilegio de patente de invención contenida en el expediente de la referencia.

ARTICULO SEGUNDO: Notificar personalmente el contenido de la presente resolución a la doctora Jimena Escobar Uribe, o a quien haga sus veces, quien actúa como apoderada de Novartis AG., entregándole copia de la misma, advirtiéndole que contra ella proceda el recurso de reposición interpuesto ante el Superintendente de Industria y Comercio, al momento de la notificación o dentro de los 5 días hábiles siguientes a ella.

NOTIFÍQUESE Y CUMPLASE

Dada en Bogotá, D.C., a las 22 OCT. 2003

EL SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO,


JIMENA ESCOBAR

Para notificar a los interesados, se fija el presente EDICTO en lugar visible al público en la SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO, por el término de (10) diez días hábiles contados a partir de las 8:30 a.m. de hoy.

Secretaría General Ad-Hoc 08-NOV-2003 

Secretaría General Ad-Hoc

EDICTO No. 17380

Este edicto se desfija hoy 19-NOV-2003 a las cinco (5:00 p.m.) 